



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2016-0094345
(43) 공개일자 2016년08월09일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

A61K 31/122 (2006.01) A61K 31/13 (2006.01)
A61K 31/35 (2006.01) A61K 31/38 (2006.01)
A61K 31/435 (2006.01) A61K 45/06 (2006.01)

(52) CPC특허분류

A61K 31/122 (2013.01)
A61K 31/13 (2013.01)

(21) 출원번호 10-2016-0012588

(22) 출원일자 2016년02월01일

심사청구일자 2016년02월12일

(30) 우선권주장

1020150015215 2015년01월30일 대한민국(KR)

(71) 출원인

고려대학교 산학협력단

서울특별시 성북구 안암로 145, 고려대학교 (안암동5가)

(72) 발명자

김원기

서울특별시 강남구 압구정로 321, 31동 901호 (압구정동, 한양아파트)

박기수

서울특별시 서초구 잠원로 85, 101동 1208호 (잠원동, 블루힐하우스)

(뒷면에 계속)

(74) 대리인

이처영, 장제환

전체 청구항 수 : 총 34 항

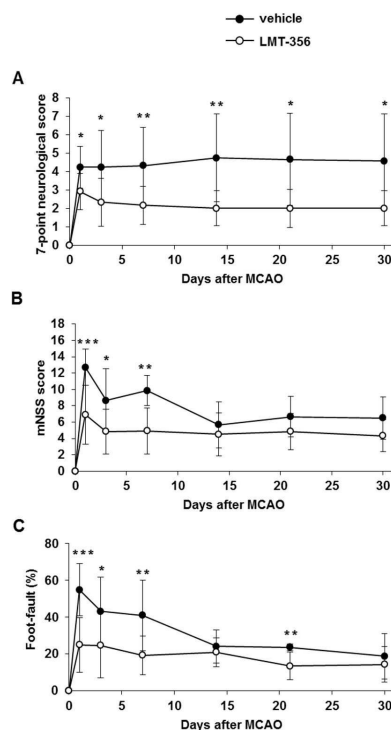
(54) 발명의 명칭 베르베논 유도체를 포함하는 재관류 시술의 부작용을 감소 또는 예방하기 위한 조성물

(57) 요약

본 발명은 재관류 시술에 의한 부작용을 감소 또는 예방하기 위한 약학 조성물에 관한 것으로서, 구체적으로는 화학식 1의 구조를 갖는 베르베논 유도체 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 포함하는 재관류 시술에 의한 부작용을 감소 또는 예방하기 위한 조성물, 및 재관류 시술을 수행하기 전에, 이와 동시에, 또는 그 후에 상기

(뒷면에 계속)

대표도 - 도3



베르베논 유도체 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 투여함으로써 재관류 시술에 의한 부작용을 감소 또는 예방하는 방법에 관한 것이다. 또한, 본 발명은 화학식 1의 구조를 갖는 베르베논 유도체 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 포함하는 재관류 시술을 받는 환자에서 뇌혈관 질환, 동맥경화증 또는 심혈관 질환을 치료하기 위한 조성물, 및 재관류 시술을 수행하기 전에, 이와 동시에, 또는 그 후에 상기 베르베논 유도체 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 투여함으로써 뇌혈관 질환, 동맥경화증 또는 심혈관 질환을 치료하는 방법에 관한 것이다.

(52) CPC특허분류

A61K 31/35 (2013.01)
A61K 31/38 (2013.01)
A61K 31/435 (2013.01)
A61K 45/06 (2013.01)
A61K 2300/00 (2013.01)

주청

서울특별시 광진구 독성로36길 48-3, 101호 (자양동)

(72) 발명자

송화영

경기도 남양주시 퇴계원면 도계원로 19, 106동 609호 (퇴계원리, 강남아파트)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 NRF-2015R1A2A201004202

부처명 미래창조과학부

연구관리전문기관 한국연구재단

연구사업명 중견연구자지원사업

연구과제명 허혈성뇌졸중 신규병용치료요법의 신속한 임상최적화를 위한 tPA유도 뇌출혈 및 재관류손

상 기 전 제 어 연 구

기 여 율 1/2

주관기관 고려대학교 산학협력단

연구기간 2015.05.01 ~ 2018.04.30이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 HI15C2796

부처명 보건복지부

연구관리전문기관 한국보건산업진흥원

연구사업명 첨단의료기술개발사업

연구과제명 SP-8203의 약리기전 규명 및 임상시험에서 최적의 치료법 확립

기 여 율 1/2

주관기관 고려대학교 산학협력단

연구기간 2015.12.01 ~ 2020.05.31

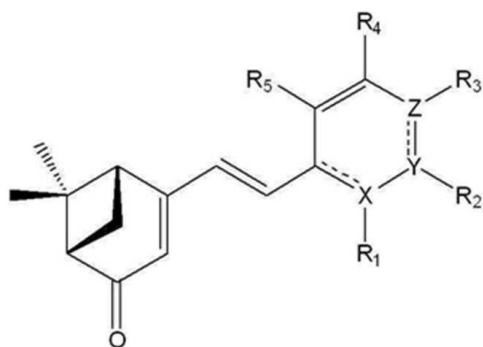
명세서

청구범위

청구항 1

하기 화학식 1의 구조를 갖는 베르베논 유도체 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 포함하는, 재관류 시술에 의한 부작용을 감소 또는 예방하기 위한 조성물:

[화학식 1]



상기 식에서,

R_1 , R_2 , R_3 , R_4 및 R_5 는 각각 독립적으로 수소원자, F, Cl, Br 또는 I로부터 선택된 할로겐 원자, 히드록시기, C_1 내지 C_3 저급알킬기, C_1 내지 C_3 저급알콕시기, 아미노기, C_1 내지 C_3 저급알킬아민기, C_1 내지 C_3 저급알킬디아민기, 탄소수 5 내지 8의 방향족환, 탄소수 5 내지 8의 지방족환, 및 고리원자수 5 내지 8의 헤테로방향족환으로 구성된 군으로부터 선택된 하나 이상의 치환기이며,

X, Y 및 Z는 각각 독립적으로 탄소원자 또는 N, O 또는 S원자로 구성된 군으로부터 선택된 하나 이상의 이종원자이고,

(---)은 이중결합 또는 단일결합을 의미한다.

청구항 2

제1항에 있어서, R_1 , R_2 , R_3 , R_4 및 R_5 는 각각 독립적으로 수소원자, F, Cl, Br 및 I로부터 선택된 할로겐 원자, 히드록시기, 메틸기, 에틸기, 메톡시기, 에톡시기, 아미노기, 탄소수 5 내지 6의 방향족환, 탄소수 5 내지 6의 지방족환, 고리원자수 5 내지 6의 헤테로방향족환으로 구성된 군으로부터 선택된 하나 이상인 것을 특징으로 하는 조성물.

청구항 3

제2항에 있어서, R_1 , R_2 , R_3 , R_4 및 R_5 는 각각 독립적으로 수소원자, F, Cl, Br 및 I로부터 선택된 할로겐 원자, 히드록시기, 메틸기, 메톡시기, 페닐기, 피롤기 및 피리딘기로 구성된 군으로부터 선택된 하나 이상인 것을 특징으로 하는 조성물.

청구항 4

제1항에 있어서, X, Y 및 Z는 각각 독립적으로 C 또는 N인 것을 특징으로 하는 조성물.

청구항 5

제1항에 있어서, 상기 베르베논 유도체는

(1S,5R)-4-(4-히드록시스티릴)-6,6-디메틸비시클로[3.1.1]헵트-3-엔-2-온(3a);

(1S,5R)-4-(4-히드록시-2-메톡시스티릴)-6,6-디메틸비시클로[3.1.1]헵트-3-엔-2-온 (3b);

(1S,5R)-4-(3,4-디히드록시스티릴)-6,6-디메틸비시클로[3.1.1]헵트-3-엔-2-온 (3c);

(1S,5R)-4-(3-브로모-4-히드록시스티릴)-6,6-디메틸비시클로[3.1.1]헵트-3-엔-2-온 (3d);

(1S,5R)-4-(4-히드록시-2,6-디메톡시스티릴)-6,6-디메틸비시클로[3.1.1]헵트-3-엔-2-온 (3e);

(1S,5R)-4-(3,4-디히드록시-5-메톡시스티릴)-6,6-디메틸비시클로[3.1.1]헵트-3-엔-2-온(3f);

(1S,5R)-4-(3-히드록시스티릴)-6,6-디메틸비시클로[3.1.1]헵트-3-엔-2-온 (3g);

(1S,5R)-4-(2-히드록시스티릴)-6,6-디메틸비시클로[3.1.1]헵트-3-엔-2-온 (3h);

(1S,5R)-4-(2-히드록시-4-메톡시스티릴)-6,6-디메틸비시클로[3.1.1]헵트-3-엔-2-온 (3i);

(1S,5R)-6,6-디메틸-4-스티릴비시클로[3.1.1]헵트-3-엔-2-온 (4a);

(1S,5R)-4-(4-플루오로스티릴)-6,6-디메틸비시클로[3.1.1]헵트-3-엔-2-온 (4b);

(1S,5R)-4-(4-메톡시스티릴)-6,6-디메틸비시클로[3.1.1]헵트-3-엔-2-온 (4c);

(1S,5R)-4-(2-(비페닐-4-일)비닐)-6,6-디메틸비시클로[3.1.1]헵트-3-엔-2-온 (4d);

(1S,5R)-4-(4-(1H-피롤-1-일)스티릴)-6,6-디메틸비시클로[3.1.1]헵트-3-엔-2-온 (4e);

(1S,5R)-4-(3,4-디메톡시스티릴)-6,6-디메틸비시클로[3.1.1]헵트-3-엔-2-온 (4f);

(1S,5R)-4-(3,5-디메톡시스티릴)-6,6-디메틸비시클로[3.1.1]헵트-3-엔-2-온 (4g);

(1S,5R)-4-(2,5-디메톡시스티릴)-6,6-디메틸비시클로[3.1.1]헵트-3-엔-2-온 (4h);

(1S,5R)-4-(5-브로모-2-메톡시스티릴)-6,6-디메틸비시클로[3.1.1]헵트-3-엔-2-온 (4i);

(1S,5R)-6,6-디메틸-4-((E)-2-(피리딘-2-일)비닐)비시클로[3.1.1]헵트-3-엔-2-온 (5a);

(1S,5R)-6,6-디메틸-4-((E)-2-(피리딘-3-일)비닐)비시클로[3.1.1]헵트-3-엔-2-온(5b); 및

(1S,5R)-6,6-디메틸-4-((E)-2-(피리딘-4-일)비닐)비시클로[3.1.1]헵트-3-엔-2-온(5c)으로부터 선택되는 것을 특징으로 하는 조성물.

청구항 6

제1항에 있어서, 재관류 치료제(therapeutic agent for recanalization)를 추가로 포함하거나 재관류 치료제와 병용되는 것을 특징으로 하는 조성물.

청구항 7

제6항에 있어서, 재관류 치료제는 혈전용해제, 항응고제 및 항혈소판 제로 이루어진 군에서 선택되는 하나 이상인 것을 특징으로 하는 조성물.

청구항 8

제7항에 있어서, 혈전용해제는 플라스미노겐 활성화제(plasminogen activator)인 것을 특징으로 하는 조성물.

청구항 9

제8항에 있어서, 플라스미노겐 활성화제는 SK(Streptokinase), tPA(Alteplase), rPA(Reteplase), TNK(Tenecteplase) 또는 APSAC(anisoylated plasminogen streptokinase activator complex)인 것을 특징으로 하는 조성물.

청구항 10

제7항에 있어서, 항응고제는 아스피린, 와르파린, 엔옥사파린, 헤파린, 실로스타졸, 클로피도그렐, 티클로피딘, 티로피반, 아브식시맵, 디피리다몰, 혈장 단백질 분획, 인간 알부민, 덱스트란, 헤타스타치, 레테플라즈, 알테플라즈, 스트렙토키나제, 우로키나제, 달테파린, 필그라스틴, 면역글로블린, 진코리드 B, 히루딘, 포로파판트, 로세파판트, 비발리루딘, 데르마탄 설페이트 메디올라늄, 에프틸리바티드, 티로피반, 트롬보모듈린, 아브스맵, 저분자량 데르마탄 설페이트-오포크린, 에프타코그 알파, 아가트로반, 폰다파리닉스 나트륨, 티파코진, 레피루딘, 데시루딘, OP2000, 록시피반, 파르나파린 나트륨, 인간 헤모글로빈(Hemosol), 소 헤모글로빈(Biopure), 인간 헤모글로빈(Northfield), 항트롬빈 III, RSR 13, 헤파린-경구(Emisphere) 유전자도입 항트롬빈 III, H37695, 엔옥사파린 나트륨, 메소글리칸, CTC 111, 비발리루딘 또는 이들의 유도체인 것을 특징으로 하는 조성물.

청구항 11

제7항에 있어서, 항혈소판제는 설핀피라존, 티클로피딘, 클로피도그렐, 프라수그렐, R-99224, R-1381727, R-125690, C-1330-7, C-50547, INS-48821, INS-48824, INS-446056, INS-46060, INS-49162, INS-49266, INS-50589, Sch-572423, AZD6140, 아세노코우마롤, 클로린디온, 디쿠마롤, 디페나디온, 에틸 비스코움아세테이트, 펜프로코우몬, 페닌디온, 티오클로마롤, 와르파린, 헤파린, 항트롬빈 III, 베미파린 (Bemiparin), 달테파린 (Dalteparin), 다나파로이드 (Danaparoid), 에녹사파린 (Enoxaparin), 폰다파리닉스 (Fondaparinux) (이하), 나드로파린 (Nadroparin), 파르나파린 (Parnaparin), 레비파린 (Reviparin), 솔로덱시드 (Sulodexide), 틴자파린 (Tinzaparin), 압식시마브 (abciximab), 엠티피바티드 (eptifibatide), 티로피반 (tirofiban), 알테플라제 (Alteplase), 안크로드 (Ancrod), 아니스트레플라제 (Anistreplase), 브리나제 (Brinase), 드로트레코긴 알파 (Drotrecogin alfa), 피브리노리신 (Fibrinolysin), 단백질 C, 레테플라제 (Reteplase), 사루플라제 (Saruplase), 스트렙토키나제 (Streptokinase), 테넥테플라제 (Tenecteplase) 또는 우로키나제 (Urokinase)인 것을 특징으로 하는, 조성물.

청구항 12

제1항에 있어서, 재관류 기술은 뇌혈관 질환, 동맥경화증 또는 심혈관 질환을 치료하기 위한 것인 조성물.

청구항 13

제1항에 있어서,

뇌혈관 질환은 뇌졸중, 뇌경색, 뇌혈전증 또는 뇌색전증인 것을 특징으로 하는 조성물.

청구항 14

제1항에 있어서,

심혈관 질환은 심근경색 또는 협심증인 것을 특징으로 하는 조성물.

청구항 15

제1항에 있어서,

재관류 기술은 음압을 걸어서 혈전을 흡입하는 방법, 코일을 걸어 혈전을 빼내는 방법, 스텐트를 삽입하여 좁아진 혈관을 넓혀줌과 동시에 스텐트를 빼면서 혈전을 같이 제거하는 방법인 것을 특징으로 하는 조성물.

청구항 16

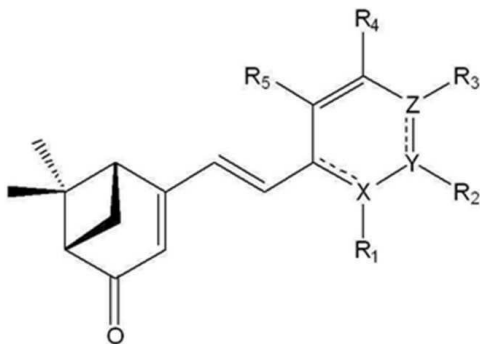
제1항에 있어서,

재관류 기술에 의한 부작용은 출혈, 재협착 및 천공인 것을 특징으로 하는 조성물.

청구항 17

하기 화학식 1의 구조를 갖는 베르베논 유도체 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 포함하는, 재관류 기술을 받는 환자에서 뇌혈관 질환, 동맥경화증 또는 심혈관 질환을 치료하기 위한 조성물.

[화학식 1]



상기 식에서,

R_1 , R_2 , R_3 , R_4 및 R_5 는 각각 독립적으로 수소원자, F, Cl, Br 또는 I로부터 선택된 할로젠 원자, 히드록시기, C_1 내지 C_3 저급알킬기, C_1 내지 C_3 저급알콕시기, 아미노기, C_1 내지 C_3 저급알킬아민기, C_1 내지 C_3 저급알킬디아민기, 탄소수 5 내지 8의 방향족환, 탄소수 5 내지 8의 지방족환, 및 고리원자수 5 내지 8의 헤테로방향족환으로 구성된 군으로부터 선택된 하나 이상의 치환기이며,

X, Y 및 Z는 각각 독립적으로 탄소원자 또는 N, O 또는 S원자로 구성된 군으로부터 선택된 하나 이상의 이종원자이고,

()은 이중결합 또는 단일결합을 의미한다.

청구항 18

제17항에 있어서, R_1 , R_2 , R_3 , R_4 및 R_5 는 각각 독립적으로 수소원자, F, Cl, Br 및 I로부터 선택된 할로젠 원자, 히드록시기, 메틸기, 에틸기, 메톡시기, 에톡시기, 아미노기, 탄소수 5 내지 6의 방향족환, 탄소수 5 내지 6의 지방족환, 고리원자수 5 내지 6의 헤테로방향족환으로 구성된 군으로부터 선택된 하나 이상인 것을 특징

으로 하는 조성물.

청구항 19

제18항에 있어서, R_1 , R_2 , R_3 , R_4 및 R_5 는 각각 독립적으로 수소원자, F, Cl, Br 및 I로부터 선택된 할로겐 원자, 히드록시기, 메틸기, 메톡시기, 페닐기, 피롤기 및 피리딘기로 구성된 군으로부터 선택된 하나 이상인 것을 특징으로 하는 조성물.

청구항 20

제17항에 있어서, X, Y 및 Z는 각각 독립적으로 C 또는 N인 것을 특징으로 하는 조성물.

청구항 21

제17항에 있어서, 상기 베르베논 유도체는

(1S,5R)-4-(4-히드록시스티릴)-6,6-디메틸비시클로[3.1.1]헵트-3-엔-2-온(3a);

(1S,5R)-4-(4-히드록시-2-메톡시스티릴)-6,6-디메틸비시클로[3.1.1]헵트-3-엔-2-온 (3b);

(1S,5R)-4-(3,4-디히드록시스티릴)-6,6-디메틸비시클로[3.1.1]헵트-3-엔-2-온 (3c);

(1S,5R)-4-(3-브로모-4-히드록시스티릴)-6,6-디메틸비시클로[3.1.1]헵트-3-엔-2-온 (3d);

(1S,5R)-4-(4-히드록시-2,6-디메톡시스티릴)-6,6-디메틸비시클로[3.1.1]헵트-3-엔-2-온 (3e);

(1S,5R)-4-(3,4-디히드록시-5-메톡시스티릴)-6,6-디메틸비시클로[3.1.1]헵트-3-엔-2-온(3f);

(1S,5R)-4-(3-히드록시스티릴)-6,6-디메틸비시클로[3.1.1]헵트-3-엔-2-온 (3g);

(1S,5R)-4-(2-히드록시스티릴)-6,6-디메틸비시클로[3.1.1]헵트-3-엔-2-온 (3h);

(1S,5R)-4-(2-히드록시-4-메톡시스티릴)-6,6-디메틸비시클로[3.1.1]헵트-3-엔-2-온 (3i);

(1S,5R)-6,6-디메틸-4-스티릴비시클로[3.1.1]헵트-3-엔-2-온 (4a);

(1S,5R)-4-(4-플루오로스티릴)-6,6-디메틸비시클로[3.1.1]헵트-3-엔-2-온 (4b);

(1S,5R)-4-(4-메톡시스티릴)-6,6-디메틸비시클로[3.1.1]헵트-3-엔-2-온 (4c);

(1S,5R)-4-(2-(비페닐-4-일)비닐)-6,6-디메틸비시클로[3.1.1]헵트-3-엔-2-온 (4d);

(1S,5R)-4-(4-(1H-피롤-1-일)스티릴)-6,6-디메틸비시클로[3.1.1]헵트-3-엔-2-온 (4e);

(1S,5R)-4-(3,4-디메톡시스티릴)-6,6-디메틸비시클로[3.1.1]헵트-3-엔-2-온 (4f);

(1S,5R)-4-(3,5-디메톡시스티릴)-6,6-디메틸비시클로[3.1.1]헵트-3-엔-2-온 (4g);

(1S,5R)-4-(2,5-디메톡시스티릴)-6,6-디메틸비시클로[3.1.1]헵트-3-엔-2-온 (4h);

(1S,5R)-4-(5-브로모-2-메톡시스티릴)-6,6-디메틸비시클로[3.1.1]헵트-3-엔-2-온 (4i);

(1S,5R)-6,6-디메틸-4-((E)-2-(피리딘-2-일)비닐)비시클로[3.1.1]헵트-3-엔-2-온 (5a);

(1S,5R)-6,6-디메틸-4-((E)-2-(피리딘-3-일)비닐)비시클로[3.1.1]헵트-3-엔-2-온(5b); 및

(1S,5R)-6,6-디메틸-4-((E)-2-(피리딘-4-일)비닐)비시클로[3.1.1]헵트-3-엔-2-온(5c)으로부터 선택되는 것을 특징으로 하는 조성물.

청구항 22

제17항에 있어서, 재관류 치료제를 추가로 포함하거나 재관류 치료제와 병용되는 것을 특징으로 하는 조성물.

청구항 23

제22항에 있어서, 재관류 치료제는 혈전용해제, 항응고제 및 항혈소판제로 이루어진 군에서 선택되는 하나 이상인 것을 특징으로 하는 조성물.

청구항 24

제23항에 있어서, 혈전용해제는 플라스미노겐 활성화제(plasminogen activator)인 것을 특징으로 하는 조성물.

청구항 25

제24항에 있어서, 플라스미노겐 활성화제는 SK(Streptokinase), tPA(Alteplase), rPA(Reteplase), TNK(Tenecteplase) 또는 APSAC(anisoylated plasminogen streptokinase activator complex)인 것을 특징으로 하는 조성물.

청구항 26

제23항에 있어서, 항응고제는 아스피린, 와르파린, 엔옥사파린, 헤파린, 실로스타졸, 클로피도그렐, 티클로피딘, 티로피반, 아브식시맵, 디피리다몰, 혈장 단백질 분획, 인간 알부민, 텍스트란, 헤타스타치, 레테플라즈, 알테플라즈, 스트렙토키나제, 우로키나제, 달테파린, 필그라스틴, 면역글로블린, 진코리드 B, 히루딘, 포로파판트, 로세파판트, 비발리루딘, 테르마탄 설페이트 메디올라늄, 에프틸리바티드, 티로피반, 트롬보모듈린, 아브스맵, 저분자량 테르마탄 설페이트-오포크린, 에프타코그 알파, 아르가트로반, 폰다파리닉스 나트륨, 티파코진, 레피루딘, 데시루딘, OP2000, 록시피반, 파르나파린 나트륨, 인간 헤모글로빈(Hemosol), 소 헤모글로빈(Biopure), 인간 헤모글로빈(Northfield), 항트롬빈 III, RSR 13, 헤파린-경구(Emisphere) 유전자도입 항트롬빈 III, H37695, 엔옥사파린 나트륨, 메소글리칸, CTC 111, 비발리루딘 또는 이들의 유도체인 것을 특징으로 하는 조성물.

청구항 27

제23항에 있어서, 항혈소판제는 설핀피라존, 티클로피딘, 클로피도그렐, 프라수그렐, R-99224, R-1381727, R-125690, C-1330-7, C-50547, INS-48821, INS-48824, INS-446056, INS-46060, INS-49162, INS-49266, INS-50589, Sch-572423, AZD6140, 아세노코우마롤, 클로린디온, 디쿠마롤, 디페나디온, 에틸 비스코움아세테이트, 펜프로코우몬, 페닌디온, 티오크로마롤, 와르파린, 헤파린, 항트롬빈 III, 베미파린 (Bemiparin), 달테파린 (Dalteparin), 다나파로이드 (Danaparoid), 에녹사파린 (Enoxaparin), 폰다파리닉스 (Fondaparinux) (이하), 나드로파린 (Nadroparin), 파르나파린 (Parnaparin), 레비파린 (Reviparin), 솔로덱시드 (Sulodexide), 틴자파린 (Tinzaparin), 압식시마브 (abciximab), 엠티피바티드 (eptifibatide), 티로피반 (tirofiban), 알테플라제 (Alteplase), 안크로드 (Ancrod), 아니스트레플라제 (Anistreplase), 브리나제 (Brinase), 드로트레코진 알파 (Drotrecogin alfa), 피브리노리신 (Fibrinolysin), 단백질 C, 레테플라제 (Reteplase), 사루플라제 (Saruplase), 스트렙토키나제 (Streptokinase), 테넥테플라제 (Tenecteplase) 또는 유로키나제 (Urokinase)인 것을 특징으로 하는, 조성물.

청구항 28

제17항에 있어서,

뇌혈관 질환이 뇌졸중, 뇌경색, 뇌혈전증 또는 뇌색전증인 것을 특징으로 하는 조성물.

청구항 29

제17항에 있어서,

심혈관 질환이 심근경색 또는 협심증인 것을 특징으로 하는 조성물.

청구항 30

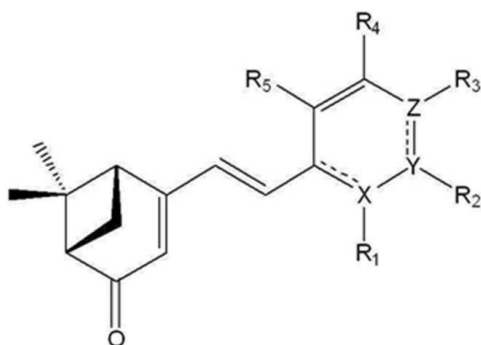
제22항에 있어서,

상기 (i) 베르베논 유도체 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 및 (ii) 재관류 치료제가 0.02:1~10:1의 중량 비로 사용되는 것을 특징으로 하는 조성물.

청구항 31

재관류 시술을 수행하기 전에, 이와 동시에, 또는 그 후에 하기 화학식 1의 구조를 갖는 베르베논 유도체 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 투여하는 단계를 포함하는, 재관류 시술에 의한 부작용을 감소 또는 예방하는 방법:

[화학식 1]



상기 식에서,

R_1 , R_2 , R_3 , R_4 및 R_5 는 각각 독립적으로 수소원자, F, Cl, Br 또는 I로부터 선택된 할로젠 원자, 히드록시기, C_1 내지 C_3 저급알킬기, C_1 내지 C_3 저급알콕시기, 아미노기, C_1 내지 C_3 저급알킬아민기, C_1 내지 C_3 저급알킬디아민기, 탄소수 5 내지 8의 방향족환, 탄소수 5 내지 8의 지방족환, 및 고리원자수 5 내지 8의 헤테로방향족환으로 구성된 군으로부터 선택된 하나 이상의 치환기이며,

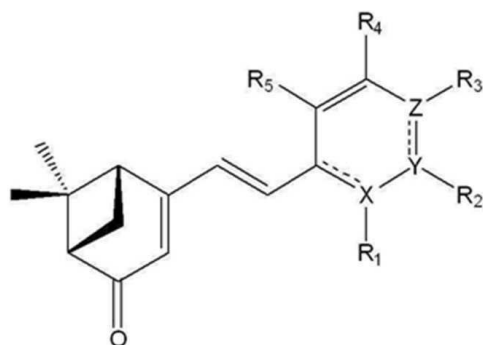
X, Y 및 Z는 각각 독립적으로 탄소원자 또는 N, O 또는 S원자로 구성된 군으로부터 선택된 하나 이상의 이종원자이고,

(---)은 이중결합 또는 단일결합을 의미한다.

청구항 32

재관류 시술에 의한 부작용을 감소 또는 예방하기 위한 하기 화학식 1의 구조를 갖는 베르베논 유도체 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염의 용도:

[화학식 1]



상기 식에서,

R₁, R₂, R₃, R₄ 및 R₅는 각각 독립적으로 수소원자, F, Cl, Br 또는 I로부터 선택된 할로겐 원자, 히드록시기, C₁ 내지 C₃ 저급알킬기, C₁ 내지 C₃ 저급알콕시기, 아미노기, C₁ 내지 C₃ 저급알킬아민기, C₁ 내지 C₃ 저급알킬디아민기, 탄소수 5 내지 8의 방향족환, 탄소수 5 내지 8의 지방족환, 및 고리원자수 5 내지 8의 헤테로방향족환으로 구성된 군으로부터 선택된 하나 이상의 치환기이며,

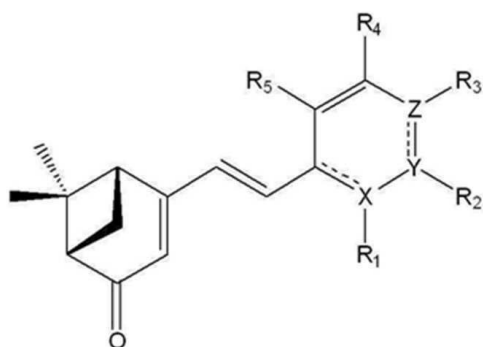
X, Y 및 Z는 각각 독립적으로 탄소원자 또는 N, O 또는 S원자로 구성된 군으로부터 선택된 하나 이상의 이종원자이고,

()은 이중결합 또는 단일결합을 의미한다.

청구항 33

재관류 기술을 수행하기 전에, 이와 동시에, 또는 그 후에 하기 화학식 1의 구조를 갖는 베르베논 유도체 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 투여하는 단계를 포함하는, 뇌혈관 질환, 동맥경화증 또는 심혈관 질환의 치료방법:

[화학식 1]



상기 식에서,

R₁, R₂, R₃, R₄ 및 R₅는 각각 독립적으로 수소원자, F, Cl, Br 또는 I로부터 선택된 할로겐 원자, 히드록시기, C₁ 내지 C₃ 저급알킬기, C₁ 내지 C₃ 저급알콕시기, 아미노기, C₁ 내지 C₃ 저급알킬아민기, C₁ 내지 C₃ 저급알킬디아민기, 탄소수 5 내지 8의 방향족환, 탄소수 5 내지 8의 지방족환, 및 고리원자수 5 내지 8의 헤테로방향족환으로 구성된 군으로부터 선택된 하나 이상의 치환기이며,

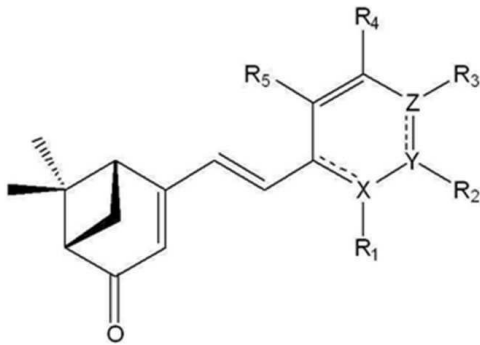
X, Y 및 Z는 각각 독립적으로 탄소원자 또는 N, O 또는 S원자로 구성된 군으로부터 선택된 하나 이상의 이종원자이고,

()은 이중결합 또는 단일결합을 의미한다.

청구항 34

재관류 시술을 받는 환자에서 뇌혈관 질환, 동맥경화증 또는 심혈관 질환을 치료하기 위한 하기 화학식 1의 구조를 갖는 베르베논 유도체 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염의 용도:

[화학식 1]



상기 식에서,

R_1 , R_2 , R_3 , R_4 및 R_5 는 각각 독립적으로 수소원자, F, Cl, Br 또는 I로부터 선택된 할로젠 원자, 히드록시기, C_1 내지 C_3 저급알킬기, C_1 내지 C_3 저급알콕시기, 아미노기, C_1 내지 C_3 저급알킬아민기, C_1 내지 C_3 저급알킬디아민기, 탄소수 5 내지 8의 방향족환, 탄소수 5 내지 8의 지방족환, 및 고리원자수 5 내지 8의 헤테로방향족환으로 구성된 군으로부터 선택된 하나 이상의 치환기이며,

X, Y 및 Z는 각각 독립적으로 탄소원자 또는 N, O 또는 S원자로 구성된 군으로부터 선택된 하나 이상의 이중원자이고,

()은 이중결합 또는 단일결합을 의미한다.

발명의 설명

기술 분야

[0001]

본 발명은 재관류 시술에 의한 부작용을 감소 또는 예방하기 위한 약학 조성물에 관한 것으로서, 구체적으로는 화학식 1의 구조를 갖는 베르베논 유도체 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 포함하는 재관류 시술에 의한 부작용을 감소 또는 예방하기 위한 조성물, 및 재관류 시술을 수행하기 전에, 이와 동시에, 또는 그 후에 상기 베르베논 유도체 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 투여함으로써 재관류 시술에 의한 부작용을 감소 또는 예방하는 방법에 관한 것이다. 또한, 본 발명은 화학식 1의 구조를 갖는 베르베논 유도체 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 포함하는 재관류 시술을 받는 환자에서 뇌혈관 질환, 동맥경화증 또는 심혈관 질환을 치료하기 위한 조성물, 및 재관류 시술을 수행하기 전에, 이와 동시에, 또는 그 후에 상기 베르베논 유도체 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 투여함으로써 뇌혈관 질환, 동맥경화증 또는 심혈관 질환을 치료하는 방법에 관한 것이다.

배경 기술

[0003]

혈액은 산소나 영양분을 몸의 각 조직이나 세포로 운반하는 역할을 하는데, 신체기관, 조직 또는 부위로 혈액을 공급하는 혈관이 협착 또는 수축하거나, 정상적인 혈관 생성이 충분히 이루어지지 않아 혈액 공급이 부족하여 산소가 결핍된 상태를 허혈(ischemia)이라고 한다. 허혈은 세포를 비가역적으로 손상시키고 조직의 괴사(necrosis)로 이어지게 된다. 특히, 뇌나 심장은 혈류 공급 부족에 가장 민감한 신체 기관으로서, 예를 들어,

뇌졸중 또는 두부 손상 등으로 조직에 허혈이 발생하면 허혈성 캐스케이드(ischemic cascade)라고 불리는 일련의 과정들이 촉발되어 조직이 영구적으로 손상된다. 이러한 조직 손상을 막기 위해 허혈이 생긴 후에 혈류가 다시 흐르는 것을 재관류(再灌流, reperfusion)라고 한다.

[0004] 뇌 혈관 질환 중 뇌졸중(腦卒中)은 뇌에 혈액을 공급하고 있는 혈관이 막히거나 터짐으로써, 뇌의 국소적인 부분이 손상되어 나타나는 질환으로, 흔히 "중풍"으로 알려져 있다. 뇌졸중은 뇌의 혈관이 완전히 막히거나 심하게 좁아져 조직 내 혈류가 공급되지 못하여 발생하는 허혈성 뇌졸중(80~85%)과 출혈에 의해 뇌세포의 기능이 손상되는 증상인 출혈성 뇌졸중(15~20%)으로 나뉜다. 뇌졸중은 우리나라 사망률의 2위, 전 세계적 사망률의 3위를 차지하고 있으며, 운동, 감각기능의 손상 및 기억, 학습, 연산, 추리 등 고차원적 기능의 저해를 야기하여 삶의 질을 파괴하며 환자가 사망에 이를 때까지 본인과 그 가족에게 많은 정신적, 육체적 고통을 야기하고 또한 현대 사회의 노령화 추세로 노인 인구의 급속한 증가가 이루어지고 있는 최근의 경향에 비추어 볼 때 뇌졸중 발생과 발생 후 생존 기간의 증가는 큰 사회적 문제로 대두되고 있다.

[0005] 전체 뇌졸중의 대부분을 차지하고 있는 허혈성 뇌졸중은 급성기(7일 이내) 혹은 아급성기(4주 이내) 임상 경과에 따라 향후 환자의 예후가 결정되는 경우가 많다. 이러한 허혈성 뇌졸중에서 급성기 치료의 생리적 표적인 뇌-허혈성 음영(ischemic penumbra)의 뇌조직이 다시 기능을 하도록 혈류를 재공급시키기 위해서 재관류 치료가 수행된다. 하지만, 현재까지 재관류 치료법은 정맥제 투여방법으로는 증상발현 4.5시간이내까지 또는 동맥내 방법으로는 6시간 이내에 재관류가 되어야 환자의 예후를 호전시킬 수 있는 것으로 알려져 있다. 그러나, 갑자기 허혈성 뇌졸중이 발생한 환자가 병원에 도착하기까지는 시간이 걸리는 까닭에, 우리나라를 포함하여 세계적으로도 뇌졸중 환자가 시간 내에 발견되어 응급실에서 적절한 재관류 치료를 받을 수 있는 비율은 극히 낮은 수준이다. 따라서, 대부분의 급성 허혈성 뇌졸중 환자들이 적절한 치료를 받지 못하고 있는 실정이기 때문에 급성기 환자에서 안전하고 효과적인 새로운 치료법을 개발하는 것이 너무나도 절실하다.

[0006] 또한, 허혈성 질환인 허혈성 심혈관 질환 또는 허혈성 말초혈관 질환의 경우는 뇌에서보다는 상대적으로 긴 치료창(time window)을 가지고 있지만 여전히 많은 환자들이 부작용에 대한 우려없이 안심하고 약물 치료를 받을 수 있는 치료시간을 놓쳐 적절한 치료를 받지 못하고 있는 것이 현 실정이다.

[0007] 뿐만 아니라, 심장, 뇌, 말초 조직에 허혈성 질환이 발생하여 치료시간 내에 재관류 치료를 성공적으로 받는다고 할지라도 경우에 따라 조직손상이 더 발생하는 경우가 있는데 이를 재관류 손상이라고 한다. 이러한 재관류 손상은 천천히 혈관이 막히는 경우가 아니고 갑자기 혈관이 막히는 경우, 조직의 허혈이 더 큰 경우, 혈관이 막혀있는 시간이 더 길었던 경우 더 쉽게 발생하는 것으로 알려져 있다. 따라서 이러한 재관류 손상이 나타나면 더 많은 조직 손상을 초래하므로, 재관류 수술이나 시술을 받는 것이 오히려 더 나쁜 예후를 야기하는 경우들이 종종 있었다.

[0008] 뇌졸중의 임상적인 중요성과 큰 시장 등에도 불구하고 뇌졸중에 대한 치료제 개발은 여전히 미진한 수준에 불과하며 임상적으로 허용된 뇌졸중의 치료제는 조직 플라스미노겐 활성화제(tissue plasminogen activator: tPA)를 제외하고는 없는 실정이다. 지금까지 많은 연구진들이 홍분성신경전달물질인 글루타민산 수용체에 대한 길항제나 항산화제를 허혈성 뇌졸중 치료제로 개발하고자 하였으나 약효가 미미하거나 약물의 독성으로 인하여 모두 실패로 끝났다.

[0009] 급성 허혈성 뇌졸중의 경우, 정맥투여 혈전용해술(IV tPA)는 뇌졸중 발생 후 처음 4.5시간동안 환자를 치료하는데 사용되는 FDA에서 승인받은 치료법이다. tPA를 이용한 재관류 치료가 허혈성 뇌졸중에 대하여 승인된 유일한 치료임에도 불구하고, 치료 범위가 매우 좁아 제한적이고, 뇌출혈 또는 치명적 출혈성 변환을 유발할 위험성이 매우 높다. 환자가 뇌졸중 발생 후 병원 응급실에 도착하기까지 수시간이 지나는 것이 보통이고, 뇌졸중의 발생 후 수분에서 수시간 내에 신경세포는 과도한 글루타민산의 유리로 인한 흥분성 신경독성에 의하여 1차 손상을 받게 되며 시간이 지나면서 산소 및 질소 라디칼의 과도한 생성에 노출되어 2차적 손상을 받게 된다. 수습 시간이 지나면 염증반응으로 인하여 지속적이고 심한 손상을 받게 되고 따라서 흥분성 신경독성 차단 물질의 사용은 현실적인 어려움이 때문에 임상적으로 무의미하다. 뇌졸중 발병 초기 3시간까지는 tPA를 이용한 재관류 치료를 통해 경색을 효과적으로 감소시켰으나, 이후 지연되어 뇌졸중 발병 3시간 이후에 tPA 처리시 경색을 감소시키지 않을 뿐 아니라, 뇌출혈 및 사망률을 증가시킬 수 있다. 이러한 증가된 출혈성 변환 및 tPA를 이용한 혈전용해술이 지연되어 발생하는 좋지 못한 결과는 산화 스트레스와 염증 및 이와 관련된 뇌혈관 장벽 파괴 (blood-brain barrier disruption)가 주로 기여하여 발생한다.

[0010] 불행히도 혈전용해술은 이를 실시한 30 내지 50%의 환자에서만 막힌 혈관을 재개통(recanalization)할 수 있고, 대혈관 폐색(larger vessel occlusions)의 경우에는 겨우 10 내지 20%의 환자만 막힌 혈관을 뚫을 수 있다. 또

한, 혈관이 다시 폐색될 확률이 무려 17%나 되고, 증상성 뇌출혈(symptomatic intracranial hemorrhage: sICH)이 일어날 위험도 크다. 뿐만 아니라, 뇌졸중 발생시에 경구용 항응고제 및 항혈전제를 투여 중인 환자에 정맥투여 혈전용해술을 적용하는 경우에는 증상성 뇌출혈이 발생할 위험이 10배나 증가한다. 따라서, 혈전을 단편으로 자르고 제거할 수 있는 혈관내 기계적 재관류 시술(endovascular mechanical thrombectomy)을 사용하여 막힌 혈관을 뚫을 수 있는 대체적인 방법이 요구되고 있다.

[0011] 최근의 연구는, 뇌졸중 발생 후 4.5 내지 8시간이 경과한 뇌졸중 환자에 기계적 재관류 시술을 실시하는 경우, 70 내지 90%의 환자에서 막힌 혈관을 뚫을 수 있고, 대혈관 폐색 및 심각한 허혈성 뇌졸중인 경우조차도 장기간 뇌졸중 결과가 보다 양호하다고 보고하였다(논문 [Campbell BC, Mitchell PJ, Kleinig TJ, Dewey HM, Churilov L, Yassi N, et al. Endovascular therapy for ischemic stroke with perfusion-imaging selection. *New England Journal of Medicine*. 2015;372:1009-1018]; [Saver JL, Goyal M, Bonafe A, Diener HC, Levy EI, Pereira VM, et al. Solitaire™ with the intention for thrombectomy as primary endovascular treatment for acute ischemic stroke (swift prime) trial: Protocol for a randomized, controlled, multicenter study comparing the solitaire revascularization device with iv tpa with iv tpa alone in acute ischemic stroke. *International Journal of Stroke*. 2015;10:439-448]; [Grotta J, Hacke W. Stroke neurologist's perspective on the new endovascular trials. *Stroke; a journal of cerebral circulation*. 2015;46:1447-1452]; 및 [Broderick JP, Berkhemer OA, Palesch YY, Dippel DW, Foster LD, Roos YB, et al. Endovascular therapy is effective and safe for patients with severe ischemic stroke pooled analysis of interventional management of stroke iii and multicenter randomized clinical trial of endovascular therapy for acute ischemic stroke in the netherlands data. *Stroke*. 2015:STROKEAHA. 115.011397] 참조).

[0012] 항응고제 투여 중인 뇌졸중 환자에 기계적 혈전제거술을 수행하는 경우 증상성 뇌출혈이 발생할 확률이 증가하는 것은 아니므로, 항혈전요법으로 치료받고 있는 뇌졸중 환자의 치료법으로 기계적 혈전제거술이 제안되어 왔다(논문 [Rebello LC, Haussen DC, Belagaje S, Anderson A, Frankel M, Nogueira RG. Endovascular treatment for acute ischemic stroke in the setting of anticoagulation. *Stroke*. 2015:STROKEAHA. 115.011285]; 및 [De Marchis G, Jung S, Colucci G, Meier N, Fischer U, Weck A, et al. Intracranial hemorrhage, outcome, and mortality after intra-arterial therapy for acute ischemic stroke in patients under oral anticoagulants. *Stroke; a journal of cerebral circulation*. 2011;42:3061-3066] 참조). 상기 연구에서 입증되는 바와 같이 기계적 혈전제거술의 강력한 효과에도 불구하고, 29 내지 67%의 환자에서는 결과가 좋지 않았다(수정 랭킨 척도(modified Rankin scale) >3). 이처럼 결과가 안 좋았던 원인 중 하나로 재개통이 지연되고(즉, 재관류 손상) 이후의 음영(penumbra) 조직 손실의 가속화로 인한 여파 때문일 수 있다.

[0013] 뇌경색 후 뇌혈류가 급속히 회복되면 조직의 재산소화가 증가되고 호스트 항산화 방어를 위협하는 산화적 스트레스가 빠르게 형성되어, 뇌세포의 손상 및 뇌혈관 장벽(BBB)의 붕괴를 일으키는 DNA 손상, 단백질 산화 및 지질 과산화를 초래한다. 또한, 허혈성 뇌졸중은, 중앙 괴사 인자 α (TNF- α), 인터루킨 1 β (IL-1 β), 단핵세포 화학주성 단백질 1(monocyte chemotactic protein 1: MCP-1), 및 매트릭스 메탈로프로테이나제(matrix metalloproteinases; MMPs)와 같은 전염증성 매개체의 방출을 일으키고, 전염증성 매개체는 1차 뇌 손상을 악화시키고 재관류 손상에 가해자로서 작용한다. BBB가 더 이상 손상되지 않은 경우에는 좀 과장된 것일 수 있지만, 재관류 손상의 다른 두드러진 특징은 회복된 혈류와 함께 호중구, 단핵구/대식세포(macrophages)와 같은 말초 염증 세포의 연속적인 침투이다. 전염증 매개체의 방출 이외에도, 또한 이들 염증 세포는 질산화적 스트레스(nitrosative stress)를 일으킴으로써 뇌 손상에 기여할 수 있다. 따라서, 허혈성/재관류 손상에 대해 세포 보호를 추가하는 것은 혈관내 요법의 결과를 개선시키는데 도움을 줄 수 있다.

[0014] 최근 본 출원의 발명자들은 (1S)-(-)-베르베논(verbenone)의 유도체가 신경세포 사멸 및 산화적 스트레스의 감소, 뇌허혈성 손상 저해 효과 및 염증성세포의 이주에 대한 저해 효과가 있음을 확인하고, 이들 유도체의 뇌졸중과 같은 퇴행성 뇌질환에 대한 치료 용도를 제안한 바 있다(국제특허출원공개공보 제WO 2013/183920호).

[0015] 나아가, 본 발명에서는 허혈성 혈관 질환을 치료하기 위해 재관류 시술을 실시하는 환자에게 신경 보호 약물(neuroprotectant)인 상기 베르베논 유도체를 투여함으로써, 재관류 시술로 인해 발생하는 부작용인 출혈이나 조직 손상(재협착, 천공 등)을 감소시켜 뇌혈관 질환, 동맥경화증 또는 심혈관 질환의 치료효과를 개선시킬 수 있음을 발견하고 본 발명을 완성하게 되었다.

발명의 내용

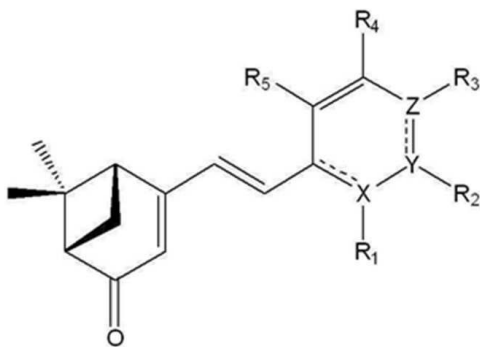
해결하려는 과제

[0017] 본 발명의 목적은 뇌혈관 질환, 동맥경화증 또는 심혈관 질환 치료하기 위해 수행되는 재관류 시술시 부작용으로 나타나는 출혈 및 재협착, 천공 등과 같은 조직 손상을 방지하고 뇌혈관 질환, 동맥경화증 또는 심혈관 질환의 치료 효과를 개선시킬 수 있는 조성물 및 치료방법을 제공하는데 있다.

과제의 해결 수단

[0019] 상기 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 하기 화학식 1의 구조를 갖는 베르베논 유도체 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 포함하는, 재관류 시술에 의한 부작용을 감소 또는 예방하기 위한 조성물을 제공한다:

화학식 1



[0020]

[0021] 상기 식에서,

[0022] R_1 , R_2 , R_3 , R_4 및 R_5 는 각각 독립적으로 수소원자, F, Cl, Br 또는 I로부터 선택된 할로겐 원자, 히드록시기, C_1 내지 C_3 저급알킬기, C_1 내지 C_3 저급알콕시기, 아미노기, C_1 내지 C_3 저급알킬아민기, C_1 내지 C_3 저급알킬디아민기, 탄소수 5 내지 8의 방향족환, 탄소수 5 내지 8의 지방족환, 및 고리원자수 5 내지 8의 헤테로방향족환으로 구성된 군으로부터 선택된 하나 이상의 치환기이며,

[0023] X, Y 및 Z는 각각 독립적으로 탄소원자 또는 N, O 또는 S원자로 구성된 군으로부터 선택된 하나 이상의 이종원자이고,

[0024] ()은 이중결합 또는 단일결합을 의미한다.

[0025] 또한, 본 발명은 재관류 시술을 수행하기 전에, 이와 동시에, 또는 그 후에 화학식 1의 구조를 갖는 베르베논 유도체 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 투여하는 단계를 포함하는, 재관류 시술에 의한 부작용을 감소 또는 예방하기 위한 방법을 제공한다.

[0026] 다른 한편으로, 본 발명은 상기 화학식 1의 구조를 갖는 베르베논 유도체 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 포함하는, 재관류 시술을 받는 환자에서 뇌혈관 질환, 동맥경화증 또는 심혈관 질환을 치료하기 위한 조성물을 제공한다.

[0027] 뿐만 아니라, 본 발명은 재관류 시술을 수행하기 전에, 이와 동시에, 또는 그 후에 상기 화학식 1의 구조를 갖는 베르베논 유도체 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 투여하는 단계를 포함하는, 뇌혈관 질환, 동맥경화증 또는 심혈관 질환의 치료방법을 제공한다.

발명의 효과

[0029] 상기 화학식 1의 베르베논 유도체는 항염증작용, 항산화작용, 항흥분성독성(anti-excitotoxicity)등의 다중 기전을 통하여 신경 보호 작용을 가진다. 본 발명에 따른 베르베논 유도체를 포함하는 조성물 또는 이를 투여함을 포함하는 치료방법을 통해, 신경 보호 약물인 베르베논 유도체는 재관류 시술시 부작용으로 발생하는 출혈과 조직 손상을 경감시키고 생존율을 증가시켜 뇌혈관 질환, 동맥경화증 또는 심혈관 질환의 치료 효과를 개선시킬 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0031] 도 1은 래트에서 MCAO(middle cerebral artery occlusion: 중대뇌동맥 폐색)을 통하여 유발된 허혈성 뇌손상을 LMT-356이 억제하는지 확인하기 위해 본 발명에서 실시한 실험 프로토콜을 나타낸 것이다.

도 2의 A는 MCAO후 비히클 처리군과 LMT-356 처리군의 일일 생존율을 30일동안 평가한 결과를 나타낸 그래프이다.

도 2의 B는 MCAO후 비히클 처리군과 LMT-356 처리군의 체중을 30일간 측정된 결과를 나타낸 그래프이다.

도 3의 A는 MCAO후 비히클 처리군과 LMT-356 처리군에 대해 7-스케일 신경학 평가를 실시한 결과를 나타낸 그래프이다.

도 3의 B는 MCAO후 비히클 처리군과 LMT-356 처리군에 대해 mNSS 평가를 실시한 결과를 나타낸 그래프이다.

도 3의 C는 MCAO후 비히클 처리군과 LMT-356 처리군에 대해 보행 실수 시험(foot fault test)을 실시한 결과를 나타낸 그래프이다.

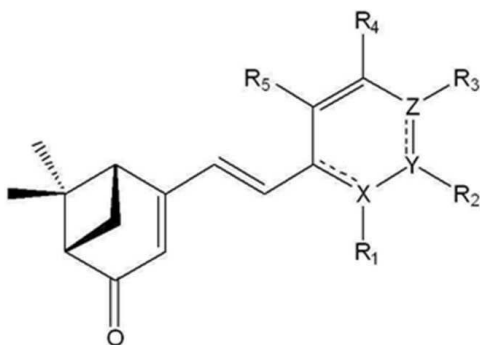
도 4의 A는 MCAO후 30일째에 비히클 처리군과 LMT-356 처리군에서 적출한 래트의 뇌를 6개로 연속 절편(serial section)한 것을 촬영한 사진을 도시한 것이다.

도 4의 B는 MCAO후 30일째에 비히클 처리군과 LMT-356 처리군의 뇌 위축 정도를 평가한 결과를 나타낸 것이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0032] 일 관점에서, 본 발명은 하기 화학식 1의 구조를 갖는 베르베논 유도체 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 포함하는, 재관류 시술에 의한 부작용을 감소 또는 예방하기 위한 조성물에 관한 것이다:

[0033] [화학식 1]



[0034]

[0035] 상기 식에서,

[0036] R₁, R₂, R₃, R₄ 및 R₅는 각각 독립적으로 수소원자, F, Cl, Br 또는 I로부터 선택된 할로젠 원자, 히드록시기, C₁ 내지 C₃ 저급알킬기, C₁ 내지 C₃ 저급알콕시기, 아미노기, C₁ 내지 C₃ 저급알킬아민기, C₁ 내지 C₃ 저급알킬디아민기, 탄소수 5 내지 8의 방향족환, 탄소수 5 내지 8의 지방족환, 및 고리원자수 5 내지 8의 헤테로방향족환으로 구성된 군으로부터 선택된 하나 이상의 치환기이며,

[0037] X, Y 및 Z는 각각 독립적으로 탄소원자 또는 N, O 또는 S원자로 구성된 군으로부터 선택된 하나 이상의 이종원자이고,

- [0038] ()은 이중결합 또는 단일결합을 의미한다.
- [0039] 혈전제거 수술이나 시술을 통하여 뇌혈전을 제거함으로써 직접적인 뇌관류를 유발하기도 하는데, 이 때 뇌출혈과 뇌손상 가능성이 있다. 그러나, 본 출원의 발명자들은 재관류 시술을 받는 것과 유사한 MCAO후 래트에게 상기 베르베논 유도체를 포함하는 조성물을 투여하는 경우 재관류 시술시 발생하는 부작용인 뇌출혈 및 뇌손상(예: 뇌경색의 크기 및 부종의 증가, 신경행동학적 이상(defects) 등)을 막고 생존율을 증가시킬 수 있음을 확인하였다.
- [0040] 상기 화학식 1의 베르베논 유도체는 국제특허출원공개공보 제W02013/183920에 개시된 바와 같으며, 본 출원에 참고로 인용된다. 하나의 실시예에서, 상기 R_1 , R_2 , R_3 , R_4 및 R_5 는 각각 독립적으로 수소원자, F, Cl, Br 및 I로부터 선택된 할로젠 원자, 히드록시기, 메틸기, 에틸기, 프로필기, 부틸기, 펜틸기, 헥실기, 메톡시기, 에톡시기, 프로폭시기, 부톡시기, 펜톡시기, 헥톡시기, 아미노기, 탄소수 5 내지 6의 방향족환, 탄소수 5 내지 6의 지방족환, 고리원자수 5 내지 6의 헤테로방향족환으로 구성된 군으로부터 선택된 하나 이상일 수 있다. 바람직하게는, 상기 R_1 , R_2 , R_3 , R_4 및 R_5 는 각각 독립적으로 수소원자, F, Cl, Br 및 I로부터 선택된 할로젠 원자, 히드록시기, 메틸기, 메톡시기, 페닐기, 피롤기 및 피리딘기로 구성된 군으로부터 선택된 하나 이상일 수 있다.
- [0041] 하나의 실시예에서, 상기 X, Y 및 Z는 각각 독립적으로 C 또는 N일 수 있다.
- [0042] 구체적으로, 상기 베르베논 유도체는
- [0043] (1S,5R)-4-(4-히드록시스티릴)-6,6-디메틸비시클로[3.1.1]헵트-3-엔-2-온(3a);
- [0044] (1S,5R)-4-(4-히드록시-2-메톡시스티릴)-6,6-디메틸비시클로[3.1.1]헵트-3-엔-2-온 (3b);
- [0045] (1S,5R)-4-(3,4-디히드록시스티릴)-6,6-디메틸비시클로[3.1.1]헵트-3-엔-2-온 (3c);
- [0046] (1S,5R)-4-(3-브로모-4-히드록시스티릴)-6,6-디메틸비시클로[3.1.1]헵트-3-엔-2-온 (3d);
- [0047] (1S,5R)-4-(4-히드록시-2,6-디메톡시스티릴)-6,6-디메틸비시클로[3.1.1]헵트-3-엔-2-온 (3e);
- [0048] (1S,5R)-4-(3,4-디히드록시-5-메톡시스티릴)-6,6-디메틸비시클로[3.1.1]헵트-3-엔-2-온(3f);
- [0049] (1S,5R)-4-(3-히드록시스티릴)-6,6-디메틸비시클로[3.1.1]헵트-3-엔-2-온 (3g);
- [0050] (1S,5R)-4-(2-히드록시스티릴)-6,6-디메틸비시클로[3.1.1]헵트-3-엔-2-온 (3h);
- [0051] (1S,5R)-4-(2-히드록시-4-메톡시스티릴)-6,6-디메틸비시클로[3.1.1]헵트-3-엔-2-온 (3i);
- [0052] (1S,5R)-6,6-디메틸-4-스티릴비시클로[3.1.1]헵트-3-엔-2-온 (4a);
- [0053] (1S,5R)-4-(4-플루오로스티릴)-6,6-디메틸비시클로[3.1.1]헵트-3-엔-2-온 (4b);
- [0054] (1S,5R)-4-(4-메톡시스티릴)-6,6-디메틸비시클로[3.1.1]헵트-3-엔-2-온 (4c);
- [0055] (1S,5R)-4-(2-(비페닐-4-일)비닐)-6,6-디메틸비시클로[3.1.1]헵트-3-엔-2-온 (4d);
- [0056] (1S,5R)-4-(4-(1H-피롤-1-일)스티릴)-6,6-디메틸비시클로[3.1.1]헵트-3-엔-2-온 (4e);
- [0057] (1S,5R)-4-(3,4-디메톡시스티릴)-6,6-디메틸비시클로[3.1.1]헵트-3-엔-2-온 (4f);
- [0058] (1S,5R)-4-(3,5-디메톡시스티릴)-6,6-디메틸비시클로[3.1.1]헵트-3-엔-2-온 (4g);
- [0059] (1S,5R)-4-(2,5-디메톡시스티릴)-6,6-디메틸비시클로[3.1.1]헵트-3-엔-2-온 (4h);
- [0060] (1S,5R)-4-(5-브로모-2-메톡시스티릴)-6,6-디메틸비시클로[3.1.1]헵트-3-엔-2-온 (4i);
- [0061] (1S,5R)-6,6-디메틸-4-((E)-2-(피리딘-2-일)비닐)비시클로[3.1.1]헵트-3-엔-2-온 (5a);
- [0062] (1S,5R)-6,6-디메틸-4-((E)-2-(피리딘-3-일)비닐)비시클로[3.1.1]헵트-3-엔-2-온(5b); 및
- [0063] (1S,5R)-6,6-디메틸-4-((E)-2-(피리딘-4-일)비닐)비시클로[3.1.1]헵트-3-엔-2-온(5c)으로부터 선택된 것일 수 있다.
- [0064] 본 발명에 사용된 용어 "할로젠"은 염소, 요오드, 불소 및 브롬을 나타낸다.

- [0065] 용어 " C_{1-3} 알킬"은 탄소수 1 내지 3의 분지쇄 또는 직쇄 알킬기, 예를 들어 메틸, 에틸, n-프로필, 이소프로필 등을 포함하나 이들로 한정되지 않는다.
- [0066] 용어 " C_{1-3} 알콕시"는 화학식 -OR의 잔기를 의미하며, 이때 R은 본원에서 정의된 바와 같은 알킬 잔기이다. 알콕시 잔기의 예는 메톡시, 에톡시, 아이소프로폭시 등을 포함하나 이들로 한정되지 않는다.
- [0067] 용어 "아미노"는 화학식 -NRR'의 잔기를 의미하며, 이때 R 및 R'는 각각 독립적으로 수소 또는 본원에서 정의된 바와 같은 알킬이다.
- [0068] 용어 "탄소수 5 내지 8의 방향족환"은 5 내지 8개의 탄소로 이루어진 방향족 탄화수소 고리를 의미하며, 바람직하게는 페닐일 수 있다.
- [0069] 용어 "탄소수 5 내지 8의 지방족환"은 5 내지 8개의 탄소로 이루어진 포화 1가 모노-사이클릭 탄화수소 고리(예컨대, 사이클로펜틸 또는 사이클로헥실)를 의미한다.
- [0070] 용어 "고리원자수 5 내지 8의 헤테로방향족환"은 N, O 및 S로부터 선택된 1, 2 또는 3개의 고리 헤테로원자를 함유하고 나머지 고리 원자가 C인 하나 이상의 방향족 고리를 갖는 5 내지 8개의 고리 원자로 이루어진 모노사이클릭 또는 바이사이클릭 라디칼을 의미하며, 예컨대 피리딜, 피라지닐, 피리미디닐, 피리다지닐, 트라이아지닐, 티아졸릴, 티에닐, 퓨릴, 피롤릴, 이미다졸릴, 피라졸릴, 옥사조릴, 아이소티아졸릴, 아이소옥사졸릴 등을 포함하나 이들로 한정되지 않으며, 이들은 각각 치환되거나 비치환될 수 있다. 바람직한 헤테로방향족환은 피롤릴기 또는 피리딘기일 수 있다.
- [0071] 상기 화학식1로 표시되는 본 발명의 화합물들은 당해 기술 분야에서 통상적인 방법에 따라 약학적으로 허용 가능한 염 및 용매화물로 제조될 수 있다.
- [0072] 약학적으로 허용 가능한 염은 약학적으로 허용 가능한 유리산(free acid)에 의해 형성된 산 부가염이 유용하다. 산 부가 염은 통상의 방법, 예를 들면 화합물을 과량의 산 수용액에 용해시키고, 이 염을 수산화성 유기 용매, 예를 들면 메탄올, 에탄올, 아세톤 또는 아세토니트릴을 사용하여 침전시켜서 제조한다. 동 물량의 화합물 및 물 중의 산 또는 알코올(예, 글리콜 모노메틸에테르)을 가열하고 이어서 상기 혼합물을 증발시켜서 건조시키거나, 또는 석출된 염을 흡인 여과시킬 수 있다.
- [0073] 이 때, 유리산으로는 유기산과 무기산을 사용할 수 있으며, 무기산으로는 염산, 인산, 황산, 질산, 주석산 등을 사용할 수 있고 유기산으로는 메탄술폰산, *p*-톨루엔술폰산, 아세트산, 트리플루오로아세트산, 시트르산, 말레인산(maleic acid), 숙신산, 옥살산, 벤조산, 타르타르산, 푸마르산, 만데르산, 프로피온산(propionic acid), 구연산(citric acid), 젖산(lactic acid), 글리콜산(glycollic acid), 글루콘산(gluconic acid), 갈락투론산, 글루탐산, 글루타르산(glutaric acid), 글루쿠론산(glucuronic acid), 아스파르트산, 아스코르브산, 카본산, 바닐릭산, 히드로 아이오딕산 등을 사용할 수 있다.
- [0074] 또한, 염기를 사용하여 약학적으로 허용 가능한 금속염을 만들 수 있다. 알칼리 금속 또는 알칼리토 금속염은, 예를 들면 화합물을 과량의 알칼리 금속 수산화물 또는 알칼리토금속 수산화물 용액 중에 용해하고, 비용해 화합물염을 여과한 후 여액을 증발, 건조시켜 얻는다. 이 때, 금속염으로서는 특히 나트륨, 칼륨 또는 칼슘염을 제조하는 것이 제약상 적합하며, 또한 이에 대응하는 은염은 알칼리 금속 또는 알칼리토 금속염을 적당한 은염(예, 질산은)과 반응시켜 얻는다.
- [0075] 상기의 화학식 1의 구조를 갖는 화합물의 약학적으로 허용 가능한 염은, 달리 지시되지 않는 한, 화학식 1의 구조를 갖는 화합물에 존재할 수 있는 산성 또는 염기성기의 염을 포함한다. 예를 들면, 약학적으로 허용 가능한 염으로는 히드록시기의 나트륨, 칼슘 및 칼륨 염이 포함되며, 아미노기의 기타 약학적으로 허용 가능한 염으로는 히드로브로마이드, 황산염, 수소 황산염, 인산염, 수소 인산염, 이수소 인산염, 아세테이트, 숙시네이트, 시트레이트, 타르트레이트, 락테이트, 만델레이트, 메탄설포네이트(메실레이트) 및 *p*-톨루엔설포네이트(토실레이트) 염이 있으며, 당업계에서 알려진 염의 제조방법이나 제조과정을 통하여 제조될 수 있다.
- [0076] 본 발명에 사용된 용어 "재관류 기술"은 혈관내에 생성된 혈전을 제거하고 혈류가 다시 흐르도록 위한 수술 또는 기술을 의미하며, 외과적 혈전제거술 및 스텐트(stent) 등의 사용을 통한 재관류 유발 조작법 등을 포함하나 이에 한정되지 않는다. 재관류 기술은 재관류 치료제(예: tPA와 같은 플라스미노겐 활성화제)의 단점을 보완하기 위해 이용된다. 구체적으로 재관류 기술은 (i) 재관류 치료제의 투여가능 시간이 경과한 이후에도 실시할 수 있고, (ii) 재관류 치료제의 단점인 뇌내 출혈(intracranial hemorrhage)이 없고, (iii) 재관류 치료제의

효과가 저하되는 것으로 보고되어 있는 근위부 대혈관인 내경동맥(intra carotid artery)이나 중대뇌동맥(Middle cerebral artery)의 M1 단편에도 유용하게 쓰일 수 있다.

- [0077] 재관류 기술에는 음압을 걸어서 혈전을 흡입하는 방법(근위부 혈전제거술: proximal thrombectomy), 코일을 걸어 혈전을 빼내는 방법(원위부 혈전제거술: distal thrombectomy), 그리고 스텐트를 삽입하여 좁아진 혈관을 넓혀줌과 동시에 스텐트를 빼면서 혈전을 같이 제거하는 방법(스텐트 리트리버: Stent retriever) 등이 있다. 근위부 혈전제거술은 혈전의 근위부에서 접근하여 음압을 걸어워서 혈전을 제거하는 방법으로, 주로 흡입 장치를 이용하며, 예컨대 Penumbra system이 있다. 원위부 혈전제거술은 혈전을 지나서 원위부에서부터 와이어를 걸어서 혈전을 제거하는 방법으로, 주로 코일 장치를 이용하며, 예컨대 Merci system이 있다. 스텐트 리트리버를 이용하는 방법은 관상동맥과 마찬가지로 스텐트를 넣어서 혈관의 재관류를 유도하는 방법이다. 본 발명에 따른 조성물 및 치료방법은 상기 언급한 기술 이외에 재관류를 목적으로 하는 다양한 재관류 기술에 적용될 수 있다.
- [0078] 본 발명에서 재관류 기술은 뇌혈관 질환, 동맥경화증, 심혈관 질환 등을 치료하기 위해 실시되는 수술 또는 기술을 의미하나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0079] 상기 뇌혈관 질환은 뇌졸중, 뇌경색, 뇌혈전증, 뇌색전증 등을 포함하며, 이에 제한되는 것은 아니다. 상기 심혈관 질환은 심근경색, 협심증 등을 포함하나 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0080] 한 실시양태에서 본 발명의 베르베논 유도체 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 포함하는, 재관류 기술에 의한 부작용을 감소 또는 예방하기 위한 조성물은 재관류 치료제(therapeutic agent for recanalization)를 추가로 포함할 수 있다. 또한, 베르베논 유도체 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 포함하는 본 발명의 조성물은 재관류 치료제와 병용하여 사용될 수 있다.
- [0081] 이와 관련하여, 최근 아래 5개의 임상시험에서 기계적 혈전용해술과 tPA와의 병용 투여가 tPA 단독에 비해 더 우월한 임상결과를 나타낸다고 보고하였다. 이들 임상시험은 모두 앞순환계(anterior circulation)의 급성 뇌졸중 환자들을 대상으로 하였으며 증상 발병 후 6시간 이내에 치료 처치를 하였다.
- [0082] 1) MR CLEAN trial: Berkhemer OA, Fransen PS, Beumer D, van den Berg LA, Lingsma HF, Yoo AJ, et al. A randomized trial of intraarterial treatment for acute ischemic stroke. *N Engl J Med*. 2015;372:11-20
- [0083] 2) ESCAPE trial: Goyal M, Demchuk AM, Menon BK, Eesa M, Rempel JL, Thornton J, et al. Randomized assessment of rapid endovascular treatment of ischemic stroke. *N Engl J Med*. 2015;372:1019-1030
- [0084] 3) EXTENT-IA trial: Campbell BC, Donnan GA, Lees KR, Hacke W, Khatri P, Hill MD, et al. Endovascular stent thrombectomy: The new standard of care for large vessel ischaemic stroke. *Lancet Neurol*. 2015;14:846-854
- [0085] 4) SWIFT PRIME trial: Saver JL, Goyal M, Bonafe A, Diener HC, Levy EI, Pereira VM, et al. Stent-retriever thrombectomy after intravenous t-PA vs. t-PA alone in stroke. *N Engl J Med*. 2015;372:2285-2295
- [0086] 5) REVASCAT trial: Jovin TG, Chamorro A, Cobo E, de Miquel MA, Molina CA, Rovira A, et al. Thrombectomy within 8 hours after symptom onset in ischemic stroke. *N Engl J Med*. 2015;372:2296-2306
- [0087] 또한, 목동맥(carotid artery)의 말단부터 혈전의 위치가 MCA 16mm 미만에 위치해 있는 경우 병용 투여가 tPA 단독 투여에 비해 예후가 좋다는 보고가 있었다 (Lobsien D, et al. Mechanical thrombectomy versus systemic thrombolysis in MCA stroke: a distance to thrombus-based outcome analysis. *J Neurointervent Surg*. 2015)
- [0088] 상기 재관류 치료제는 관류 손상에 의해 유발되는 비정상적 상태의 치료, 예를 들어 혈관재형성, 혈전의 전파와 혈관 재폐색 방지, 관류를 회복시키고, 동시에 지혈의 약리적 변화와 기계적 조작에 의한 잠재적 출혈 방지에 적합한 제제라면 특별히 제한되지 않으나, 예를 들어 혈전용해제, 항응고제 및 항혈소판 제제로 이루어진 군에서 선택된 하나 이상일 수 있다.
- [0089] 상기 혈전용해제는 막힌 혈관에 존재하는 혈전을 녹이는 제제라면 특별히 제한되지 않으나, 예를 들어 플라스미노겐 활성화제 (plasminogen activator)일 수 있다. 상기 플라스미노겐 활성화제는 예를 들어, SK (Streptokinase), tPA (Alteplase), rPA (Reteplase), TNK (Tenecteplase) 또는 APSAC (anisoylated plasminogen streptokinase activator complex)일 수 있다. 이 중, tPA는 플라스미노겐을 플라스민으로 변환

가능한 프로테아제 도메인 및 피브린 결합을 담당하는 것으로 알려진 N-말단을 포함하는 2개 이상의 기능 도메인을 가지는 외인성 조직형 플라스미노겐 활성제를 의미할 수 있다. 상기 조직 플라스미노겐 활성제는 제한없이 사용될 수 있으나, 예를 들어 재조합 조직 플라스미노겐 활성제 또는 시판된 tPA일 수 있다.

[0090] 상기 항응고제는 혈관이나 심장 내에서의 혈액 응고를 방지하는 제제라면 특별히 제한되지 않으나, 예를 들어 아스피린, 와르파린, 엔옥사파린, 헤파린, 실로스타졸, 클로피도그렐, 티클로피딘, 티로피반, 아브식시랩, 디피리다몰, 혈장 단백질 분획, 인간 알부민, 텍스트란, 헤타스타치, 레테플라즈, 알테플라즈, 스트렙토키나제, 우로키나제, 달테파린, 필그라스틴, 면역글로블린, 진코리드 B, 히루딘, 포로파판트, 로세파판트, 비발리루딘, 테르마탄 셀페이트 메디올라늄, 에프틸리바티드, 티로피반, 트롬보모듈린, 아브스랩, 저분자량 테르마탄 셀페이트-오포크린, 에프타코그 알파, 아르가트로반, 폰다파리닉스 나트륨, 티파코진, 레피루딘, 데시루딘, OP2000, 록시피반, 파르나파린 나트륨, 인간 헤모글로빈(Hemosol), 소 헤모글로빈(Biopure), 인간 헤모글로빈(Northfield), 항트롬빈 III, RSR 13, 헤파린-경구(Emisphere) 유전자도입 항트롬빈 III, H37695, 엔옥사파린 나트륨, 메소글리칸, CTC 111, 비발리루딘 또는 이들의 유도체일 수 있다.

[0091] 상기 항혈소판제는 아데노신 디포스페이트 (ADP) 길항제 또는 P2Y12 길항제, 포스포디에스테라제 (PDE) 억제제, 아데노신 재흡수 억제제, 비타민 K 길항제, 헤파린, 헤파린 유사체, 직접 트롬빈 억제제, 당단백질 IIB/IIIA 억제제, 항응고성 효소일 수 있고, 이에 제한되지 않는다. 예를 들어, 상기 항혈소판 제제는 설핀피라존, 티클로피딘, 클로피도그렐, 프라수그렐, R-99224 (제조사: Sankyo), R-1381727, R-125690 (제조사: Lilly), C-1330-7, C-50547 (제조사: Millennium Pharmaceuticals), INS-48821, INS-48824, INS-446056, INS-46060, INS-49162, INS-49266, INS-50589 (제조사: Inspire Pharmaceuticals), Sch-572423 (제조사: Schering Plough), AZD6140 (제조사: AstraZeneca), 아세노코우마롤, 클로린디온, 디쿠마롤, 디페나디온, 에틸 비스코움아세테이트, 펜프로코우몬, 페닌디온, 티오클로마롤, 와르파린, 헤파린, 항트롬빈 III, 베미파린 (Bemiparin), 달테파린 (Dalteparin), 다나파로이드 (Danaparoid), 에녹사파린 (Enoxaparin), 폰다파리닉스 (Fondaparinux) (피하), 나드로파린 (Nadroparin), 파르나파린 (Parnaparin), 레비파린 (Reviparin), 술로덱시드 (Sulodexide), 틴자파린 (Tinzaparin), 암식시마브 (abciximab), 엠티피바티드 (eptifibatide), 티로피반 (tirofiban), 알테플라제 (Alteplase), 안크로드 (Ancrod), 아니스트레플라제 (Anistreplase), 브리나제 (Brinase), 드로트레코진 알파 (Drotrecogin alfa), 피브리노리신 (Fibrinolysin), 단백질 C, 레테플라제 (Reteplase), 사루플라제 (Saruplase), 스트렙토키나제 (Streptokinase), 테넥테플라제 (Tenecteplase) 또는 우로키나제 (Urokinase)일 수 있다.

[0092] 하나의 실시 양태에서, 수술이나 시술을 통하여 혈전을 제거하는 경우 상기 베르베논 유도체 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 포함하는 조성물은, 혹은 상기 베르베논 유도체 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 및 재관류 치료제를 함께 포함하는 조성물은 뇌혈관 질환, 동맥경화증 또는 심혈관 질환 발병 후 6시간 이내에, 바람직하게는 4.5시간 이내에 투여될 수 있고, 본 발명의 실시예에 따라, 허혈성 혈관 질환 발병 후 3시간 이후에도 투여될 수 있으며, 필요에 따라 수회 반복 투여할 수 있다. 이와 같이 베르베논 유도체를 포함하는 조성물을 투여함으로써 혈전을 제거하는 수술이나 시술을 실시할 때 부작용으로 발생할 수 있는 출혈이나 조직손상을 막을 수 있다.

[0093] 상기 베르베논 유도체 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 포함하는 본 발명의 조성물을 재관류 치료제와 병용하는 경우 본 발명의 조성물과 재관류 치료제를 동시에 투여할 수 있다. 또한, 상기 베르베논 유도체 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 포함하는 조성물과 재관류 치료제를 일정 시간 간격을 두고 별도로 투여할 수 있다. 예를 들어, 상기 베르베논 유도체 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 포함하는 조성물은 재관류 치료제 투여 전 또는 후 별도로 투여될 수 있다. 특히, 상기 베르베논 유도체 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 포함하는 조성물은 재관류 치료제를 투여하기 전에 투여하는 것이 바람직하다.

[0094] 상기 베르베논 유도체 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염은 예를 들어 재관류 치료제를 투여하기 0.5-6 시간 전 또는 이후, 0.5-4.5 시간 전 또는 이후, 0.5-3.5 시간 전 또는 이후, 0.5-3 시간 전 또는 이후, 0.5-2.5 시간 전 또는 이후, 0.5-2 시간 전 또는 이후, 0.5-1.5 시간 전 또는 이후, 0.85-3.5 시간 전 또는 이후, 0.85-3 시간 전 또는 이후, 0.85-2.5 시간 전 또는 이후, 0.85-2 시간 전 또는 이후, 또는 0.85-1.5 시간 전 또는 이후, 바람직하게 1.5~3 시간 전 또는 이후, 더욱 바람직하게 2~3시간 전 또는 이후 별도로 투여될 수 있다. 허혈성 뇌졸중과 같은 뇌 혈관 질환 발병 3시간 이내 또는 3시간 후 재관류 치료제가 투여되고, 베르베논 유도체 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염이 예를 들어 0.5-6 시간 간격, 0.5-4.5 시간 간격, 0.5-3.5 시간 간격, 0.5-3 시간 간격, 0.5-2.5 시간 간격, 0.5-2 시간 간격, 0.5-1.5 시간 간격, 0.85-3.5 시간 간격, 0.85-3 시간 간격, 0.85-2.5 시간 간격, 0.85-2 시간 간격, 0.85-1.5 시간 간격, 바람직하게 1.5~3 시간 간격, 더욱

바람직하게 2~3시간 간격을 두고 재관류 치료제 투여 이전 또는 이후에 투여될 수 있다.

[0095] 이와 같이, 베르베논 유도체 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 사전 투여함으로써, 재관류 시술에 의한 재관류시 발생하는 출혈 및 사망률을 감소시킬 수 있으며, 이는 MMP 발현의 감소를 통해 이루어지는 것으로 판단된다. 또한, 재관류 시술을 실시한 결과 재관류가 증가되면, 베르베논 유도체 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염이 허혈 부위로 접근하여 신경보호 효과를 나타내도록 한다. 그 결과, 베르베논 유도체 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 포함하는 조성물을 통해, 종래 뇌 혈관 질환 발병 후 3시간 이내, 늦어도 4.5시간 이내에 재관류 치료제를 투여하거나 재관류 시술의 실시하여야 했던 치료시간 범위를 약 6-8시간까지 연장시킬 수 있으며, 이를 통해 재관류 시술이나 재관류 치료제의 임상적 적용 범위를 크게 증가시킬 수 있을 것으로 사료된다.

[0096] 본 발명에 따른 조성물은 통상의 방법에 따라 산제, 과립제, 정제, 캡슐제, 현탁액, 에멀전, 시럽, 에어로졸 등의 경구형 제형, 외용제, 좌제 및 멸균 주사용액의 형태로 제형화하여 사용될 수 있으며, 이에 포함될 수 있는 담체, 부형제 및 희석제로는 락토즈, 텍스트로즈, 수크로스, 솔비톨, 만니톨, 자일리톨, 에리스리톨, 말티톨, 전분, 아카시아 고무, 알지네이트, 젤라틴, 칼슘 포스페이트, 칼슘 실리케이트, 셀룰로즈, 메틸 셀룰로즈, 미정질 셀룰로스, 폴리비닐 피롤리돈, 물, 메틸히드록시벤조에이트, 프로필히드록시벤조에이트, 마그네슘 스테아레이트 및 광물유를 들 수 있다. 제제화할 경우에는 통상적으로 사용하는 충전제, 증량제, 결합제, 습윤제, 봉쇄제, 계면활성제 등의 희석제 또는 부형제를 사용하여 조제될 수 있다.

[0097] 경구 투여를 위한 고형제제에는 정제, 환제, 산제, 과립제, 캡슐제 등이 포함되며, 이러한 고형제제는 상기 화합물에 적어도 하나 이상의 부형제 적어도 먼, 전분, 칼슘카보네이트(calcium carbonate), 수크로스(sucrose) 또는 락토오스(lactose), 젤라틴 등을 섞어 조제된다. 또한 단순한 부형제 이외에 마그네슘 스티레이트 탈크 같은 윤활제들도 사용된다. 경구를 위한 액상제제로는 현탁제, 내용액제, 유제, 시럽제 등이 해당되는데 흔히 사용되는 단순희석제인 물, 리퀴드 파라핀 이외에 여러 가지 부형제, 예를 들면 습윤제, 감미제, 방향제, 보존제 등이 포함될 수 있다.

[0098] 비경구 투여를 위한 제제에는 멸균된 수용액, 비수성용제, 현탁제, 유제, 동결건조제, 좌제가 포함된다. 비수성용제, 현탁제로는 프로필렌글리콜(propylene glycol), 폴리에틸렌 글리콜, 올리브 오일과 같은 식물성 기름, 에틸올레이트와 같은 주사 가능한 에스테르 등이 사용될 수 있다. 좌제의 기제로는 위템솔(witepsol), 마크로골, 트윈(tween), 카카오지, 라우린지, 글리세로제라틴 등이 사용될 수 있다.

[0099] 다른 관점에서, 본 발명은 재관류 시술을 수행하기 전에, 이와 동시에, 또는 그 후에 상기 화학식 1의 구조를 갖는 베르베논 유도체 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 투여하는 단계를 포함하는, 재관류 시술에 의한 부작용을 감소 또는 예방하는 방법에 관한 것이다.

[0100] 또한, 본 발명은 재관류 시술에 의한 부작용을 감소 또는 예방하기 위한 상기 화학식 1의 구조를 갖는 베르베논 유도체 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염의 용도에 관한 것이다.

[0101] 또 다른 관점에서, 본 발명은 상기 화학식 1의 구조를 갖는 베르베논 유도체 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 포함하는 재관류 시술을 받는 환자에서 뇌혈관 질환, 동맥경화증 또는 심혈관 질환을 치료하기 위한 조성물을 제공한다. 본 발명의 상기 조성물은 재관류 치료제를 추가로 포함하거나 혹은 재관류 치료제와 함께 사용될 수 있다.

[0102] 본 발명의 조성물이 상기 베르베논 유도체 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염과 재관류 치료제를 함께 포함하는 경우 상기 베르베논 유도체와 재관류 치료제 사이의 안정성을 유지하면서 시너지 효과를 낼 수 있는 것이라면 그 형태는 특별히 제한되지 않는다. 이 때, 상기 베르베논 유도체 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염과 재관류 치료제는 예를 들어, 0.02:1~10:1, 바람직하게 0.1:1~10:1의 중량비로 포함될 수 있다. 상기 정의된 범위 내의 베르베논 유도체 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염과 재관류 치료제 포함하는 경우, 2가지 유효성분 모두의 효능을 유지하여 목적하는 뇌혈관 질환, 동맥경화증 또는 심혈관 질환의 예방 또는 치료 효과를 낼 수 있다.

[0103] 또 다른 관점에서, 본 발명은 재관류 시술을 수행하기 전에, 이와 동시에, 또는 그 후에 상기 화학식 1의 구조를 갖는 베르베논 유도체 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 투여하는 단계를 포함하는 뇌혈관 질환, 동맥경화증 또는 심혈관 질환의 치료방법을 제공한다. 또한, 본 발명의 상기 치료방법은 베르베논 유도체 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 재관류 치료제와 함께 투여하는 경우를 포함하며, 베르베논 유도체 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염과 재관류 치료제는 동시에 혹은 시간을 달리하여 투여할 수 있다.

- [0104] 또한, 본 발명은 재관류 시술을 받는 환자에서 뇌혈관 질환, 동맥경화증 또는 심혈관 질환을 치료하기 위한 상기 화학식 1의 구조를 갖는 베르베논 유도체 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염의 용도에 관한 것이다.
- [0105] 수술이나 시술을 통하여 뇌혈전을 제거하는 경우 직접적인 뇌관류를 유발하기도 하는데, 이 때 뇌출혈과 뇌손상 가능성이 있다. 그러나, 수술로 혈전을 제거하여 재관류를 유도하는 것과 동일한 조건의 동물시험에서 본 발명에 따라 베르베논 유도체로 전처치하는 경우 재관류에 의한 뇌손상을 보호할 수 있음을 본 발명의 발명자들은 확인하였다. 즉, 상기 베르베논 유도체 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염은 수술이나 시술을 통하여 뇌혈전을 제거함으로써 뇌관류를 유발하는 경우에 투여됨으로써 뇌출혈과 뇌손상을 막을 수 있다.
- [0106] 상기 재관류 치료제는 허혈성 뇌졸중과 같은 뇌 혈관 질환 발병 후 3시간 이내에 투여될 수 있고, 본 발명에서는 뇌 혈관 질환 발병 후 3시간 이후에도 투여될 수 있다.
- [0107] 상기 베르베논 유도체 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염과 재관류 치료제는 동시에 투여될 수 있다. 또한, 상기 베르베논 유도체 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 및 재관류 치료제는 일정 시간 간격을 두고 별도로 투여할 수도 있다. 예를 들어, 상기 베르베논 유도체 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염은 재관류 치료제 투여 전 또는 후 별도로 투여될 수 있다.
- [0108] 상기 베르베논 유도체 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염은 예를 들어 재관류 치료제 투여 0.5-3.5 시간 전 또는 이후, 바람직하게 0.5-2 시간 전 또는 이후, 더욱 바람직하게 0.5-1.5시간 전 또는 이후 별도로 투여될 수 있다. 허혈성 뇌졸중과 같은 뇌 혈관 질환 발병 3시간 이내 또는 3시간 후 재관류 치료제가 투여되고, 베르베논 유도체 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염이 예를 들어 0.5-3.5 시간 간격, 바람직하게 0.5-2 시간 간격, 더욱 바람직하게 0.5-1.5시간 간격을 두고 재관류 치료제 투여 이전 또는 이후에 투여될 수 있다.
- [0109] 상기 베르베논 유도체 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염은 환자의 상태 및 체중, 질병의 정도, 약물형태, 투여경로 및 기간에 따라 다르지만, 당업자에 의해 적절하게 선택되어 투여될 수 있고, 예를 들어 0.01 mg/kg 내지 10 g/kg, 바람직하게 1 mg/kg 내지 1 g/kg의 투여량으로 투여될 수 있다. 상기 조직 플라즈미노겐 활성제 역시 승인된 투여량 또는 권장량에 따라 환자의 상태 등을 고려하여 당업자에 의해 적절하게 선택되어 투여될 수 있으며, 예를 들어 0.1-50 mg/kg, 바람직하게 0.5-10 mg/kg의 투여량으로 투여될 수 있다. 투여는 하루에 한번 투여할 수도 있고, 수회 나누어 투여할 수 있다.
- [0111] 이하, 실시예를 통하여 본 발명을 더욱 상세히 설명하고자 한다. 이들 실시예는 오로지 본 발명을 예시하기 위한 것으로서, 본 발명의 범위가 이들 실시예에 의해 제한되는 것으로 해석되지는 않는 것은 당업계에서 통상의 지식을 가진 자에게 있어서 자명할 것이다.
- [0113] [실시예]
- [0114] 재관류 시술에 대한 베르베논 유도체의 효과를 확인하기 위하여 ((1S,5R)-4-(3,4-디히드록시-5-메톡시스티릴)-6,6-디메틸비시클로[3.1.1]헵트-3-엔-2-온(3f)[(1S,5R)-4-(3,4-dihydroxy-5-methoxystyryl)-6,6-dimethylbicyclo[3.1.1] hept-3-en-2-one: 이하, "LMT-356"이라고 한다])를 사용하여 하기 실험을 수행하였다
- [0116] **동물**
- [0117] Charles River Laboratories(한국 서울)에서 구입한 성인 스프라그-다울리(SD) 래트 (260-270g 수컷)를 사료와 물에 자유롭게 접근가능한 상태에서 12시간 명암 순환 주기를 유지하였다. 래트는 실험에 사용하기 전에 환경에 순응시켰다. 모든 동물실험 절차는 고려대학교의 동물실험 윤리위원회(The Institutional Animal Care and Use Committee: IACUC)의 승인 하에 실험 동물의 관리와 사용에 관한 미국 국립보건원 지침(NIH Guide for the Care and Use of Laboratory Animals)(7판)에 따라 수행하였다.
- [0118] 모든 외과 수술 과정에서 래트는 마스크를 이용하여 N₂O 및 O₂ (7:3 v/v) 혼합물 중 3.0% 이소플루란(isoflurane)으로 마취를 시작하고 2% 이소플루란으로 마취를 유지시켰다. 전체 수술기간동안 체온은 직장용 온도계로 모니터링하면서 온열 패드를 이용하여 37° C ± 0.3° C로 유지시켰다.
- [0119] 뇌졸중 발생후 4시간제에 뇌졸중 징후(예컨대, 반대쪽 선회(contralateral circling)를 동반하거나 동반하지 않

고 대측성 앞다리(contralateral forelimb)를 구부림(flexion))을 보인 래트가 실험에 사용되었다. 래트는 랜덤으로 각 실험군에 배정되었고, 뇌졸중 유도후 발작의 징후를 나타낸 래트는 실험에서 배제하였다.

실험 프로토콜

뇌경색 발작시 적용되는 임상적 혈관내 기계적 혈전제거술(resemble the clinical endovascular mechanical thrombectomy following a cerebral ischemic insult)에서 야기되는 급격한 혈액의 재관류를 모방하기 위하여 실을 사용한(filamentous) 중대뇌동맥 폐색(middle cerebral artery occlusion: MCAO) 후 재관류를 유발하는 방법을 사용하였다.

논문[Lee JC, Cho GS, Kim HJ, Lim JH, Oh YK, Nam W, et al. Accelerated cerebral ischemic injury by activated macrophages/microglia after lipopolysaccharide microinjection into rat corpus callosum. *Glia*. 2005;50:168-181]에 개시된 방법을 약간 변형하여 우측 혈관 내 MCA를 폐색 함으로써 국소적 뇌허혈을 유발하였다.

요약하면, 중대뇌동맥을 폐색시키고자 열로 끝을 무디게 처리한 4-0 단섬유성 나일론 봉합사(monofilament nylon suture)를 우측 외경동맥 (external carotid artery: ECA)의 내강에 삽입하고 분지점(bifurcation)에서 부터 내측 경동맥으로 19 mm 진입시켰다.

폐색된지 4.5시간 후에 봉합사를 조심스럽게 제거하여 재관류가 일어나도록 하여 동물이 회복되도록 하였다. sham 수술한 동물은 MCAO없이 동일한 절차를 수행하였다. LMT-356 (50 mg/kg)을 MCAO후 4.5시간(재관류하기 전), 12시간, 1일, 2일 및 3일째에 꼬리 정맥으로 투여하였다. 비히클 처리한 동물군은 멸균된 식염수로 희석된 용매(5% DMSO 및 10% 크레모포어(cremophor))만을 함유하는 비히클을 정맥주사로 투여하였다.

MCAO후에 동물을 30일간 관찰하였다. 모든 동물의 몸무게를 측정하였고, MCAO 전과 MCAO후 1일, 3일, 7일, 14일, 21일 및 30일째에 기능적인 거동을 평가하였다. MCAO 도입된 허혈성 뇌졸중 래트에서 LMT-356의 효과를 확인하기 위해 본 발명에서 실시한 상기 실험 프로토콜을 도 1로 나타내었다.

실험이 끝나는 날까지(즉, 뇌졸중 발생후 30일째까지) 생존한 동물에 대해서만 뇌 위축(brain atrophy) 평가를 수행하였다. 실험하는 동안 죽은 동물에 대해서는 사망 원인을 밝혀내기 위해 뇌 부검을 실시하였다. 허혈성 뇌 장애(ischemic brain lesion)의 존재 및 심각도와 뇌내 또는 전신적인 출혈의 발생 여부가 초기 사망의 잠재적인 원인으로 밝혀졌다.

거동 평가

a.7-스케일 신경학 점수

논문[Rogers DC, Campbell CA, Stretton JL, Mackay KB. Correlation between motor impairment and infarct volume after permanent and transient middle cerebral artery occlusion in the rat. *Stroke*. 1997;28:2060-2066]에 개시된 바와 같이, 개개의 동물에게 다음과 같은 기준으로 신경학적 스케일로 점수를 부여하였다:

0 = 걸음 없음

1 = 왼쪽 앞다리를 뻗지 못함

2 = 꼬리를 당길 때 왼쪽 앞다리로 짝 잡는 것이 감소함

3 = 꼬리를 당기면 한쪽 방향으로만 움직임

4 = 왼쪽으로 회전하거나 걸음

5 = 오직 자극을 줄때만 움직임

6 = 자극에 반응하지 않음

7 = 사망.

b.변형된 신경학적 중증도 점수(Modified Neurological Severity Score: mNSS)

[0141] 아래 표 1은 변형된 신경학적 중증도 점수(mNSS)의 한 세트를 나타낸 것이다(논문 [Chen J, Li Y, Wang L, Zhang Z, Lu D, Lu M, et al. Therapeutic benefit of intravenous administration of bone marrow stromal cells after cerebral ischemia in rats. *Stroke; a journal of cerebral circulation*. 2001;32:1005-1011] 참조). 신경학적 기능은 0에서부터 18의 스케일로 등급을 매겼다(정상 점수 0; 최대 결손 점수 18). NSS은 운동, 감각, 반사 및 균형 시험의 복합체이다.

표 1

mNSS (*Ger. Med. Sci.*, 2005; 3; Doc09)

항목	상세 항목
꼬리를 잡고 들어올릴 경우 나타내는 행동 (정상:0, 최대치:3)	수술부위의 반대방향의 앞다리를 굽힘
	뒷다리를 굽힘
	30 초 이내 몸통의 수직축으로 부터 10° 이상 머리를 들어 움짚임
바닥에 두어엎을 때 나타내는 행동 (정상:0, 최대치:3)	정상적으로 움직임
	똑바로 걷지 못하고 한쪽 방향(수술부위의 반대방향)으로 움직임이 치우침
	제자리에서 한쪽방향(수술부위의 반대방향)으로 회전
	마비가 일어난 방향으로 움직이지 않음
감각 검사 (정상:0, 최대치:2)	시력 및 촉각 검사
	한쪽 방향으로 강제적인 힘을 가할 경우 버티지 못하고 밀려남
평균대 균형 검사 (정상:0, 최대치:6)	평균대 위에서 정상적인 자세를 취함 (균형을 잘 잡음)
	평균대의 옆면을 움켜잡음 (움직임이 불편함)
	평균대 위에서 균형을 잡지 못하며, 한쪽 앞다리로 평균대를 지지하지만, 다른 한쪽 다리는 평균대 아랫방향을 향하고 있음
	두 앞다리가 모두 평균대를 잡거나 지지하지 못하고 아래를 향하고 있음
	40초 경과 후 평균대 아래로 떨어짐
	20초 경과 후 평균대 아래로 떨어짐
	20초 이내에 평균대 아래로 떨어짐
반사작용 검사 (정상:0, 최대치:4)	숨으로 귀부분을 자극할 경우 고개를 흔들지 않음
	숨으로 눈을 자극할 경우 깜빡거리지 않음
	손벽을 치거나 강한 소리를 낼 때 반응하지 않음 (놀라지 않음)
	그 외 발작, 일부 근육의 경련이 발생할 경우
총 점수(정상:0, 최대치:18)	

[0142]

[0143] * 테스트하는 반사작용이 나타나지 않거나 동물이 작업을 수행하지 못할 때 1점이 주어짐: 1~6점은 가벼운 부상, 7-12점은 완화된 부상, 13-18점은 심각한 부상을 나타냄.

[0145] c. 격자 걷기(Grid walking) (보행 실수 시험: Foot-fault test)

[0146] 래트를 격자 위에 1분간 둔 후, 맹검방식으로 카운트 하면서 왼쪽 걸음(앞다리 및 뒷다리 모두)의 전체 수를 세었다. 동시에, 래트가 왼쪽 앞다리나 뒷다리를 헛디뎈 격자 아래로 떨어질 정도로 보행 실수하는 수를 모니터링하여 왼쪽 다리의 전체 실수 횟수를 기록하였다. 전체 왼쪽 걸음에 대한 보행 실수 비율을 계산하였다.

[0148] 뇌 위축 평가

- [0149] MCAO후 30일째에 래트를 희생시켰다. 래트의 뇌를 2 mm 두께로 6개의 절편으로 자른 뒤, 4% PFA(paraformaldehyde; 파라포름알데하이드)로 고정시켰다. 이미지 분석 프로그램인 TOMORO ScopeEye 3.5(한국 의Techsan Digital Co.)를 사용하여 뇌허혈 경색(ischemic infarction)의 횡단면을 결정하였다.
- [0150] 뇌 위축 정도는 다음과 같이 동측성(ipsilateral) 부피 손실을 계산하여 평가하였다:
- [0151] $\text{뇌 위축}(\%) = [(V_I - V_C)/V_C] \times 100$
- [0152] 상기 식에서, V_I 은 동측 반구 부피(ipsilateral hemisphere volume) (뇌허혈 경색이 발생한 반구: affected hemisphere)이고, V_C 는 대측 반구 부피(contralateral hemisphere volume) (뇌허혈 경색이 발생하지 않은 반구: unaffected hemisphere)이다.
- [0154] **통계 분석**
- [0155] 모든 통계분석은IBM SPSS statistics 20 (미국 뉴욕주의 IBM사)을 사용하여 수행하였다. 데이터는 평균±표준 편차(SD) 또는 평균±Q1 내지 Q3의 사분범위(interquartile ranges)로 표시하였다. 통계적 유의성은 Kruskal-Wallis test후 Mann-Whitney U test에 의해 분석하였다. 평균 생존율을 얻기 위한 Kaplan-Meier method 및 log rank test 을 사용하여 생존분석을 수행하였다. * $p<0.05$, ** $p<0.01$ 및 *** $p<0.001$ 은 비히클 처리군과 비교할 때 통계학적으로 유의한 것으로 간주하였다.
- [0157] **결과**
- [0159] **LMT-356에 의한 MCAO후 30일째인 래트의 생존율 증가**
- [0160] 비히클 처리군과 LMT-356 처리군(n은 각각 12 및 13)의 일일 생존율을 MCAO후 30일동안 평가하였고, 그 결과도 도 2의 A에 도시하였다. 비히클 처리군과 LMT-356 처리군의 평균 생존율은 각각 17.583 ± 3.819 d 및 27.769 ± 2.231 이었다. LMT-356으로 처리한 동물군은 비히클 처리군에 비해 생존이 유의적으로 증가하였다($p<0.05$). 이는 LMT-356이 뇌경색과 뇌부종을 억제하고 뇌출혈을 억제하였기 때문인 것으로 보인다.
- [0161] 삼처리군, MCAO후 비히클 처리군과 LMT-356 처리군의 체중을 측정하여 그 결과를 도 2의 B에 나타내었다. 비히클 처리군과 LMT-356 처리군 모두 MCAO후 약간의 체중 손실이 있었다. 비히클 처리군의 체중은 MCAO후 7일째부터 극적으로 회복하기 시작한 반면, LMT-356 처리군은 MCAO후 4일째부터 점차적으로 회복하기 시작하였고 MCAO 후 7일째에 삼처리군과 유의한 차이를 나타내었다($p<0.05$). 이는 LMT-356 처리군의 경우 LMT-356을 처리하지 않은 비교군에 비하여 일반적인 건강 상태가 조기에 회복되었음을 의미한다.
- [0162]
- [0163] **LMT-356에 의한 장기간 기능적인 결과의 향상**
- [0164] LMT-356로 처리한 MCAO 래트에 혈관내 재관류를 일어나게 한 후 기능적인 회복을 평가하기 위하여 장기간 거동 평가를 실시하였다. 동물에서 감각 및 운동 협응 장애를 평가하기 위하여 3개의 다른 평가를 수행하였다.
- [0165] MCAO후 비히클 처리군과 LMT-356 처리군에 대해 7-스케일 신경학 평가를 실시한 결과를 도 3의 A에 나타내었다. 7-스케일 신경학 평가는 본 실험의 전체 기간동안 비히클 처리군과 비교할 때 LMT-356 처리가 신경학적 결함을 유의성 있게 향상시킴을 보여주었다($p<0.05$, $p<0.01$). 이는 LMT-356 처리군의 경우 LMT-356을 처리하지 않은 비교군에 비하여 뇌기능을 조기에 회복함을 의미한다.
- [0166] MCAO후 비히클 처리군과 LMT-356 처리군에 대해 mNSS 평가를 실시한 결과를 도 3의 B에 나타내었다. mNSS 평가에서 LMT-356 처리군은 MCAO 후 1일, 3일 및 7일째에 측정하였을 때 본 실험의 초기 단계에서 중증도 점수가 유의성 있게 감소하였으며(각각 $p<0.001$, $p<0.05$, 및 $p<0.01$), MCAO후 7일째 이후부터는 차이가 관찰되지 않았다. 이는 LMT-356 처리군의 경우 LMT-356을 처리하지 않은 비교군에 비하여 뇌손상의 정도를 낮춘다는 것을 의미한다.
- [0167] MCAO후 비히클 처리군과 LMT-356 처리군에 대해 보행 실수 평가를 실시한 결과를 도 3의 C에 나타내었다. 보행

실수 평가에서도 상기 mNSS 평가와 유사한 결과를 얻었으며, 비히클 처리군과 비교할 때, LMT-356 처리군은 MCAO 후 1일, 3일, 7일 및 21일째에 보행 실수 비율을 유의성 있게 감소시켰다(각각 $p<0.001$, $p<0.05$, $p<0.01$, 및 $p<0.01$). 이는 LMT-356 처리군의 경우 LMT-356을 처리하지 않은 비교군에 비하여 운동기능 손상의 정도를 낮춘다는 것을 의미한다.

[0169] LMT-356에 의한 MCAO후 뇌 위축의 악화

[0170] MCAO후 30일째에 비히클 처리군과 LMT-356 처리군에서 적출한 래트의 뇌를 6개로 연속 절편한 것을 촬영한 사진을 도 4의 A에 도시하였다. MCAO후 30일째에 비히클 처리군은 오른쪽 반구에서 공동현상(cavitation)에 의한 위축이 시각적으로 명확하게 보였다.

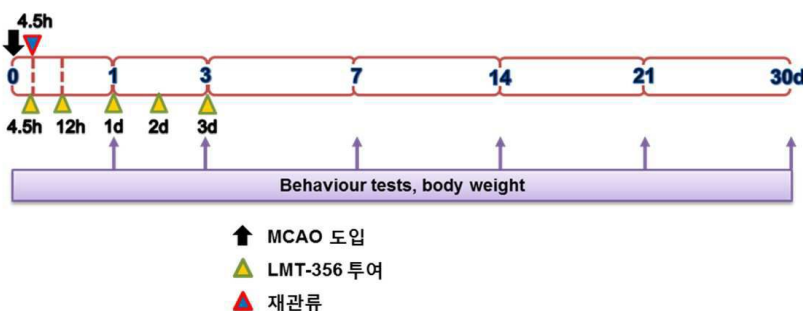
[0171] MCAO후 30일째에 비히클 처리군과 LMT-356 처리군의 뇌 위축 정도를 평가한 결과를 도 4의 B에 나타내었다. 비히클 처리군과 비교할 때 LMT-356 처리군은 뇌 위축이 36.53% 감소하였다. 이는 LMT-356 처리군의 경우 LMT-356을 처리하지 않은 비교군에 비하여 뇌 손상의 정도가 적음을 의미한다.

[0173] 본 발명이 속한 분야에서 통상의 지식을 가진 자라면 상기 내용을 바탕으로 본 발명의 범주 내에서 다양한 응용 및 변형을 행하는 것이 가능할 것이다.

도면

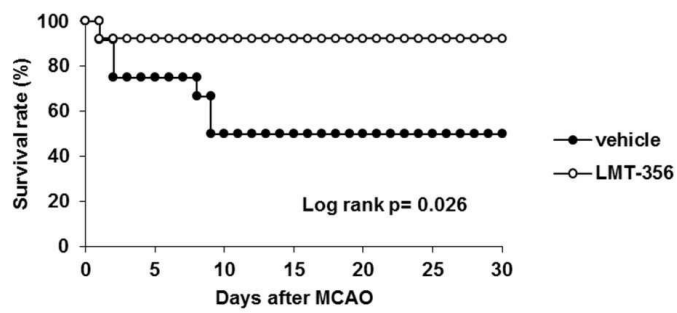
도면1

4.5h-MCAO-도입된 허혈성 뇌졸중 래트에 대한 LMT-356의 장기간 투여 효과 연구
(비히클: n=12, LMT-356: n=13)

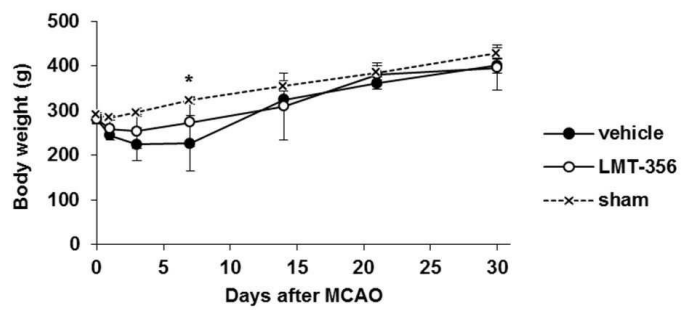


도면2

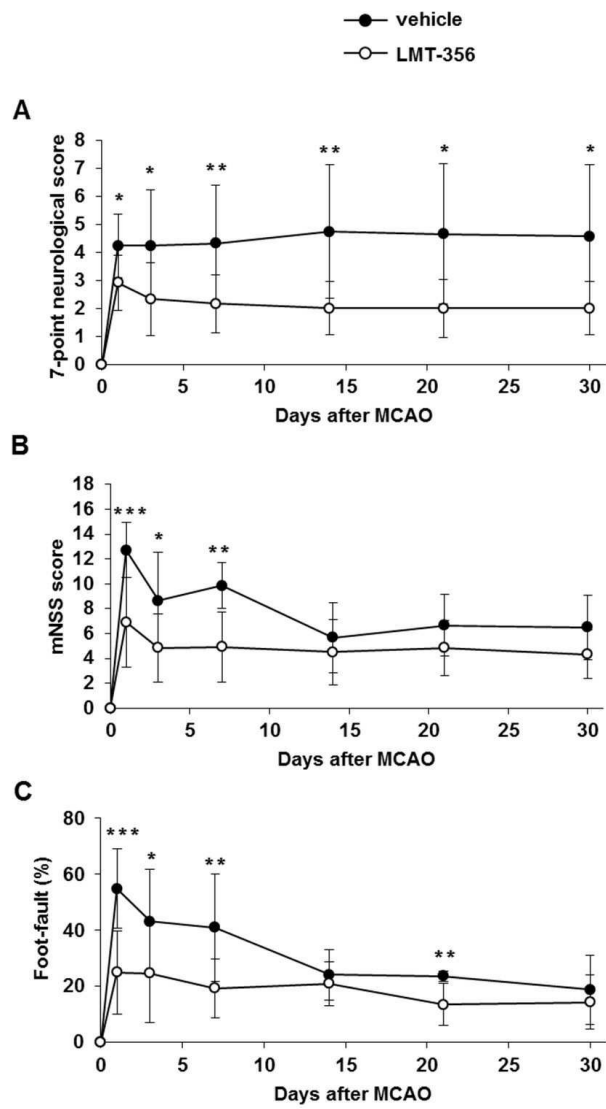
A



B



도면3



도면4

